

Effect of chemical and biological processing methods on chemical composition, ruminal degradability, gas production parameters and external digestibility of quinoa straw

Ali Naghizadeh¹, Javad Bayat Kouhsar^{2*}, Farzad Ghanbari², Farid Moslempour²

¹ MSc. Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Ganbad Kavous University, Iran,

² Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture Science and Natural Resources, Gonbad Kavous University, Iran, Email: Javad_bayat@yahoo.com

Article Info	Abstract
Article type: Research Full Paper	Introduction: The nutritional value of many lignocellulosic food materials can be improved by deligninating with physical, chemical and biological methods. Biological, chemical and physical methods are used to process agricultural by-products. In chemical processing, the use of acids, oxidative agents and alkalis are included, which alkalis are more accepted by animals in the animal husbandry industry. Biological processing is a new method that is done using enzymes and fungi. In the case of biological method, low-quality wood materials are processed by different species of fungi that have lignin-decomposing enzymes. Biological processing is an effort to use less chemicals and consume less energy compared to chemical and physical methods. Quinoa plant is a plant with good resistance to unfavorable environmental conditions, which has high tolerance against biotic and abiotic stresses. The cultivated area of the country is about 18.8 million hectares, and on the other hand, about a third of these lands are susceptible to cultivation due to poor quality soil and inappropriate water distribution, including salinity and drought. In areas with dry and salty conditions, using plants resistant to these conditions is a suitable way to deal with these conditions. So, a study was carried out to investigate the effect of different treatment methods (chemical and biological) on chemical composition, gas production parameters and digestibility of quinoa straw in a completely randomized design.
Article history: Received: Revised: Accepted:	
Keywords: Hydrogen Peroxide Chemical Composition Chemical Processing Quinoa Straw	Materials and methods: The following treatments were: 1) untreated quinoa straw (control) (CON), 2) CON processed with hydrogen peroxide, 3) CON processed with sodium hydroxide, 4) CON inoculated and fermented with <i>Bacillus Subtilis</i> and 5) CON inoculated and fermented with <i>Aspergillus Niger</i> . Prior to hydrogen peroxide treatment (132 mL of 35% H ₂ O ₂), samples were pretreated with sodium hydroxide (NaOH, 80 g/kg DM) to attain and maintain a pH of 11.5. For biological processing, activation of lyophilized vials and preparation of starter cultures of bacteria and fungi were done in MRS-broth at 37°C and PDA at 25°C, respectively. After that, one liter of the combination of distilled water and starter culture (containing at least 105 colony forming units per milliliter of

bacteria or fungi) was added to each kilogram of quinoa straw. Treated samples were then placed into plastic bags, tied up and stored under anaerobic conditions. Prior to analysis, bags were opened and air dried. Chemical composition of the samples was determined using the standard methods of AOAC. Ruminal degradability trial was carried out using the nylon bag technique. Gas production test was used to estimate gas production parameters. *In vitro* digestibility of the samples was determined through the batch culture method.

Results: The results showed that there was a significant difference between treatments in terms of chemical composition (dry matter, ash, organic matter and crude protein) ($P<0.05$). In this respect, the highest amount of dry matter was in the control treatment and the lowest in the hydrogen peroxide treatment. Among the chemical treatments, the treatments with sodium hydroxide had the highest and the treatments with hydrogen peroxide had the lowest values of Crude Ash. Different treatment methods had significant effect on gas production potential and rate ($P<0.05$). Treatments with control and fungi had the highest and sodium hydroxide treatment had the lowest gas production potential. Treatment with sodium hydroxide and hydrogen peroxide significantly increased dry matter and organic matter digestibility ($P<0.05$). In general, the bacteria had the lowest digestibility, partitioning factor, and microbial protein production.

Conclusions: Overall, the results of this study showed that treatment with sodium hydroxide and hydrogen peroxide had a greater effect on improving the nutritional value of *quinoa* straw.

Cite this article: Naghizadeh, A., Bayat Kouhsar, J., Ghanbari, F., Moslempour, F. (2023). Bioinformatics analysis of candidate genes for milk production and litter size in goat. *Journal of Ruminant Research*, 12(1), 1-14.



© The Author(s).

DOI:

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوار گندگان

شایا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۶۱
شایا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۴۲۵۳



دانشگاه علوم دامی، نهضتی کلان

تأثیر روش‌های عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، فرانسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی کاه کینوا

علی نقی‌زاده^۱، جواد بیات کوهسار^{۲*}، فرزاد قنبری^۲، فربد مسلمی‌پور^۲

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران

^۲ استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد، ایران، رایانامه: javad_bayat@yahoo.com

اطلاعات مقاله
چکیده

سابقه و هدف: ارزش غذایی بسیاری از مواد خوراکی لیگنوسلولزی می‌تواند با فرآوری به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی بهبود یابد. در عمل آوری شیمیایی استفاده از اسیدها، عوامل اکسیداتیو و قلیاها را شامل می‌شود که قلیاها در صنعت دامپروری بیشتر مورد پذیرش حیوانات قرار می‌گیرند. عمل آوری بیولوژیکی روش جدیدی است که با استفاده از آنزیم‌ها و قارچ‌ها انجام می‌شود. در روش بیولوژیکی، مواد یافی با کیفیت پایین توسط گونه‌های مختلف قارچ که دارای آنزیم‌های تجزیه کننده لیگنین هستند، عمل آوری می‌شوند. عمل آوری بیولوژیکی تلاشی برای استفاده کمتر از مواد شیمیایی و مصرف انرژی کمتر در مقایسه با روش‌های شیمیایی و فیزیکی است. گیاه کینوا گیاهی با مقاومت خوب در برابر شرایط نامساعد محیطی است که تحمل بالایی در برابر تنفس‌های زیستی و غیرزیستی دارد. سطح زیر کشت کشور حدود ۱۸/۸ میلیون هکتار است و از سوی دیگر حدود یک سوم این اراضی به دلیل خاک نامرغوب و توزیع نامناسب آب از جمله شوری و خشکسالی مستعد کشت هستند. لذا، مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر روش‌های مختلف عمل آوری شیمیایی (پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم) و بیولوژیکی (باکتری پاسیلوس سابتیلیس و قارچ آسپرژیلوس نایجر) بر ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، فرانسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم کاه کینوا در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

مواد و روش‌ها: نمونه‌های کاه کینوا تهیه شده در مجاورت هوا خشک شد و به ابعاد ۲-۵ سانتی‌متر خرد و در کیسه‌های ۳ کیلوگرمی برای اعمال تیمارهای مختلف نگهداری شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) کاه کینوا بدون هیچ گونه افزودنی (شاهد)، ۲) کاه کینوا عمل آوری شده با پراکسید هیدروژن، ۳) کاه کینوا عمل آوری شده با هیدروکسید سدیم، ۴) کاه کینوا عمل آوری شده با باکتری پاسیلوس سابتیلیس و ۵) کاه کینوا عمل آوری شده با قارچ آسپرژیلوس نایجر، بودند. به منظور عمل آوری بقایای کاه کینوا با هیدروکسید سدیم، ۵۰ گرم از این ماده در یک لیتر آب مقطور حل شده و بر روی یک کیلوگرم ماده خشک بقایا اسپری شد. این مخلوط به خوبی هم زده شد. سپس درون کیسه‌های پلاستیکی ۲ لایه ریخته شده و به خوبی فشرده

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی - پژوهشی

تاریخ دریافت:

تاریخ ویرایش:

تاریخ پذیرش:

واژه‌های کلیدی:

پراکسید هیدروژن

ترکیب شیمیایی

عمل آوری شیمیایی

کاه کینوا

گردید. در عمل آوری با پراکسید هیدروژن، ابتدا نمونه‌های بقایا با هیدروکسید سدیم پیش تیمار شدند. بدین صورت که ۸۰ گرم هیدروکسید سدیم در ۵٪ لیتر آب حل شد. سپس این محلول به ۴ لیتر آب افروده و روی ۲ کیلوگرم از بقایای خرد شده اضافه شد. نیم ساعت بعد، ۱۳۲ میلی لیتر آب اکسیژنه با درجه خلوص ۳۵ درصد در نیم لیتر آب حل شده و به این مخلوط اضافه شد. این مخلوط به خوبی هم زده شد. بقایا درون کیسه‌های پلاستیکی ۲ لایه ریخته شده و به خوبی فشرده و وکیوم شدند. کیسه‌ها به مدت ۱۸ روز در شرایط بی‌هوایی نگهداری شدند. به منظور عمل آوری بیولوژیکی، فعال‌سازی ویال‌های لیوفلیزه و تهیه کشت آغازگر از باکتری و قارچ به ترتیب در محیط‌های MRS- broth در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و PDA در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انجام شد. پس از آن به هر کیلوگرم از کاه کینوا، یک لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل ۱۰^۵ واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر باکتری یا قارچ) اضافه شدند. مخلوط حاصل در نایلون پلاستیکی به مدت ۲۱ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد جهت فرآیند تخمیر نگهداری شدند. پس از این مدت، کیسه‌ها بازشده و در معرض هوا خشک شدند. پس از عمل آوری، ترکیب شیمیایی نمونه‌ها با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین شد. آزمایش تجزیه‌پذیری با استفاده از تکنیک کیسه‌های نایلونی انجام شد. آزمون تولید گاز برای برآورد فراسنجه‌های تولید گاز استفاده شد. قابلیت هضم برونتی نمونه‌ها با استفاده از روش کشت بسته انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین تیمارهای عمل آوری شده از نظر ترکیب شیمیایی (ماده خشک، خاکستر، ماده آلی و پروتئین خام) اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). بالاترین مقدار ماده خشک مربوط به تیمار شاهد و پایین‌ترین مقدار مربوط به پراکسید هیدروژن بود. در بین تیمارهای عمل آوری شده شیمیایی، تیمارهای عمل آوری شده با هیدروکسید سدیم بالاتر و تیمارهای عمل آوری شده با پراکسید هیدروژن پایین‌تری مقدار خاکستر خام را داشتند. روش‌های مختلف عمل آوری تأثیر معنی داری بر پتانسیل و نرخ تولید گاز داشتند ($P < 0.05$). تیمار شاهد و تیمار عمل آوری شده با قارچ بالاترین و تیمار هیدروکسید سدیم پایین‌ترین پتانسیل تولید گاز را داشتند. عمل آوری با هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن به طور معنی داری قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را افزایش دادند ($P < 0.05$). تیمار عمل آوری شده با باکتری پایین‌ترین قابلیت هضم، عامل تفکیک و تولید پروتئین میکروبی را داشت ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: به طور کلی، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عمل آوری با هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن تأثیر بیشتری در بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه کینوا داشتند.

استناد: نقیزاده، ع، بیات کوهسار، ج، قبری، ف، مسلمی‌پور، ف. (۱۴۰۳). تأثیر روش‌های عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی، تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برونتی کاه کینوا. پژوهش در نسخه‌ارکن‌گان، ۱۲(۱)، ۱-۱۴.

DOI:



© نویسنده‌گان

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

کرج، خوزستان، بلوچستان، جیرفت و کهنج گزارش شد (Taosi و Sepahvand، ۲۰۱۳). کینوا با همه زمین‌های کشاورزی سازگار می‌باشد. این گیاه به خشکسالی، سرما (یخ‌زدگی)، شوری، بیماری‌ها و آفت‌ها بسیار مقاوم است (Jacobsen و همکاران، ۲۰۰۳). به دلیل همین ویژگی‌ها، امکان کشت آن در زمین‌های کم‌بازده وجود دارد. علی‌رغم اینکه این گیاه عموماً بهمنظور برداشت دانه کشت می‌شود، از لحاظ تولید علوفه نیز حائز اهمیت می‌باشد (Tan و Yondem، ۲۰۱۳). علوفه کینوا دارای ۲۶ تا ۲۸ درصد ماده خشک و ۱۳ تا ۲۲ درصد پروتئین خام می‌باشد و قابلیت هضم ماده خشک آن بین ۶۹ تا ۶۹ درصد متغیر است (Van Schooten و Pinxterhuis، ۲۰۰۳). در مطالعه‌ای، مقدار تولید علوفه خشک کینوا بیش از ۵ تن در هکتار گزارش شد (Taosi و Sepahvand، ۲۰۱۳). پس‌مانده حاصل از برداشت گیاه کینوا شامل ساقه، برگ، دانه‌های شکسته و ... می‌باشد (León و Hancco، ۲۰۰۳).

محصولات فرعی زراعی دارای مواد لیگنوسلولزی بالایی است که حاوی منابعی از انرژی با هیدروکربن‌های فراوان و مقادیر اندکی از مواد معدنی و ویتامین‌ها می‌باشند. کاهها به عنوان محصولات فرعی زراعت غلات و حبوبات، مهمترین ترکیبات لیگنوسلولزی است که در دسته مواد خوراکی غیرمعمول در جیره غذایی دام‌ها قرار دارند (Yang و همکاران، ۲۰۱۲). از جمله خصوصیات بارز این بقایای زراعی، قابلیت هضم کم آنها می‌باشد. بنابراین بهبود ارزش تغذیه‌ای این علوفه‌ها ضروری می‌باشد. بدین منظور می‌توان ارزش تغذیه‌ای بسیاری از این گونه مواد را با لیگنین‌زدایی به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی بهبود بخشید. در عمل آوری شیمیایی از اسیدها، عوامل اکسیداتیو و قلیاها استفاده می‌شود که در میان آنها استفاده از قلیاها متداول‌تر می‌باشد. عمل آوری

مقدمه

با توجه به رشد روز افزون جمعیت در کشور، نیاز به افزایش تولید محصولات کشاورزی امری بدینهی است. همچنین به دلیل محدودیت منابع آبی با کیفیت در کشور و با توجه به اینکه بخش عمده مساحت ایران از نظر اقلیمی جزء مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌گردد، امکان استفاده از آب‌های شور و نامتعارف بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته است (Jamali و همکاران، ۲۰۱۶). از طرفی حدود یک سوم از ۱۸/۸ میلیون هکتار اراضی زیر کشت کشور به دلیل خاک نامرغوب و نامناسب بودن آب از جمله شوری و خشکی، قابل کشت نمی‌باشد. لذا در چنین شرایطی استفاده از گیاهان مقاوم به عنوان راهی مناسب، جهت مقابله با این وضعیت می‌باشد. کینوا گیاهی با مقاومت مناسب به شرایط نامناسب محیطی است که در مقابل تنش‌های زیستی (قارچ‌ها، باکتری‌ها، حشرات و ویروس‌ها) و غیر زیستی (کم آبی، شوری، دمای بالا، خشکی و نور) تحمل زیادی دارد (Ramezanpour و همکاران، ۲۰۱۳).

کینوا با نام علمی *Chenopodium Quinoa Wild* از خانواده *Amaranthaceae* و زیر خانواده *Chenopodiaceae* گیاهی شورزیست اختیاری، دارای دانه‌های خوراکی سرشار از پروتئین است (Hosseini و همکاران، ۲۰۲۰). این گیاه بومی منطقه آند در بولیوی و شیلی می‌باشد که دانه‌های آن گرد و ریز هستند. این گیاه از خانواده تاج خروسیان است. دانه‌های کینوا در کشورهای آمریکای جنوبی بنام برنج اینکا معروف است و مانند برنج طبخ شده و مصرف می‌شود (FAO، ۲۰۱۱).

کینوا در ایران گیاه جدیدی به شمار می‌رود که امکان کشت این محصول و سازگاری آن با اقلیم‌های مختلف جغرافیایی ایران در چند سال اخیر مورد پژوهش قرار گرفته است و تولید محصول مناسب در

هیدروکسید سدیم، ۵۰ گرم از این ماده در یک لیتر آب مقطر حل شد و روی یک کیلوگرم ماده خشک کاه اسپری شد. مخلوط حاصل به مدت ۷۲ ساعت در کیسه‌های پلاستیکی و در شرایط اتاق نگهداری شد. پس از این مدت، کیسه‌ها باز و نمونه‌ها در معرض هوا خشک شدند (Chaudhry, ۲۰۰۰). به منظور عمل آوری با پراکسید هیدروژن، ابتدا کاه کینوا با هیدروکسید سدیم (۸۰ گرم در کیلوگرم) پیش تیمار شد. نیم ساعت بعد، ۱۳۲ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن با درجه خلوص ۳۵ درصد به این مخلوط اضافه شد نمونه‌های تیمار شده با پراکسید هیدروژن بلا فاصله در کیسه‌های نایلونی قرار داده شد و به مدت ۱۸ روز در شرایط اتاق سیلول شدند (Ghiasvand و همکاران، ۲۰۱۱).

به منظور عمل آوری بیولوژیکی، باکتری باسیلوس ساتبیلیس PTCC-1156 و قارچ آسپرژیلوس نایجر PTCC-5010 به شکل ویال‌های لشوپلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. فعال‌سازی ویال‌های لیوفلیزه و تهیه کشت آغازگر از باکتری و قارچ به ترتیب در محیط‌های MRS-^۱ broth در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و PDA در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد انجام شد. نمونه‌های قارچ تهیه شده، در شرایط استریل روی پلیت‌های حاوی محیط کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار تکثیر شدند. پس از آن به هر کیلوگرم از کاه کینوا، یک لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل ۱۰^۵ واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر باکتری یا قارچ) اضافه شدند. مخلوط حاصل در نایلون پلاستیکی به مدت ۲۱ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت فرآیند تخمیر نگهداری شدند. پس از آن نمونه‌ها در معرض هوا خشک شدند و جهت

بیولوژیکی روش جدیدی است که با استفاده از آنزیم‌ها و قارچ‌ها انجام می‌شود. در روش بیولوژیکی مواد خشبي با کیفیت پایین توسط گونه‌های مختلف قارچ که دارای آنزیم‌های تجزیه کننده لیگنین هستند، عمل آوری می‌شود. عمل آوری بیولوژیکی مواد خشبي تلاشی در جهت استفاده کمتر از مواد شیمیایی و مصرف کمتر انرژی در مقایسه با روش‌های شیمیایی و فیزیکی است (Leng, ۱۹۹۱). در یک پژوهش با لیگنین‌زدایی مواد خشبي (به ویژه کاه) به روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی نشان داده شد که روش‌های شیمیایی عمدتاً باعث از بین رفت لیگنین می‌شوند. اما در روش‌های بیولوژیکی، علاوه بر اینکه تخریب لیگنین به مراتب بیشتر است، کیفیت و ارزش تغذیه‌ای محصول نیز افزایش می‌یابد (Hans و همکاران، ۱۹۹۲). با این حال، با توجه جدید بودن کشت این گیاه، تا به حال مطالعات زیادی در خصوص تعیین ارزش تغذیه‌ای فرآورده‌های جانسی کینوا و یا بهبود آن صورت نگرفته است. لذا، هدف از انجام این مطالعه، تعیین ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی کاه کینوا عمل آوری نشده و عمل آوری شده با تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی بود.

مواد و روش‌ها

عمل آوری و تعیین ترکیب شیمیایی: کاه کینوا از مزارع اطراف شهرستان آشخانه جمع آوری و به آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه گنبدکاووس انتقال داده شد. نمونه‌های کاه تهیه شده در مجاورت هوا خشک شد و به ابعاد ۲-۵ سانتی‌متر خرد شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) کاه کینوا بدون افزودنی (شاهد)، (۲) شاهد+پراکسید هیدروژن، (۳) شاهد+هیدروکسید سدیم، (۴) شاهد+باکتری باسیلوس ساتبیلیس و (۵) شاهد+قارچ آسپرژیلوس، بودند. به منظور عمل آوری با

^۱ Modified Rogosa broth

^۲ Potato Dextrose Agar

تاثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی... / علی نقی‌زاده و همکاران

منظور اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی مقدار ۰/۱ گرم از نمونه خشک کاه با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول داغ ۸۰ درصد مخلوط و برای ۱۰ دقیقه ساتریفیوژ گردید. مخلوط رویی برای تغليظ در حمام آب جوش قرار داده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر آب محلول حاصل، به ترتیب ۲/۵ و ۰/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و معرف فولین-سیوکالتو ۵۰ درصد اضافه شد. بعد از مدت ۳ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه و برای ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. در پایان مقدار جذب نمونه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر قرائت و سپس میزان کل ترکیبات فنولی بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم وزن خشک نمونه به دست آمد (Singh و Malick, ۱۹۸۰).

تولید گاز در شرایط برونتنی: برای انجام آزمایش تولید گاز، مایع شکمبه از ۳ رأس گوسفنده نر فیستول دار نژاد دلاچ (۴۵ \pm ۲/۵ کیلوگرم) از بخش‌های مختلف شکمبه و قبل از وعده تغذیه صبحگاهی جمع‌آوری شد. ذرات درشت مایع شکمبه با عبور دادن از چهار لایه پارچه متقابل جداشده و در یک بن ماری با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلانز ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سبوس و مکمل معدنی و ویتامینی) تغذیه شدند و حیوانات به آب آزادانه دسترسی داشتند. بزار مصنوعی مطابق روش Menke و همکاران (۱۹۷۹) تهیه و با مایع شکمبه با نسبت ۲:۱ مخلوط شد. به داخل ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک آسیاب شده (۳ تکرار)، ۳۰ میلی‌لیتر از این محلول ریخته شد. تولید گاز در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون توسط

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تغذیه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند (Sharari و همکاران, ۲۰۱۱).

بعد از سپری شدن زمان معین عمل‌آوری، درب نمونه‌ها باز و نمونه‌ها باهم مخلوط شدند. سپس از سطوح بالایی، میانی و پایینی هر ماده سیلو شده نمونه برداری شد. مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه جهت تعیین درصد ماده خشک در آون (دمای ۶۵ درجه سلسیوس) به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد (Kung و همکاران، ۲۰۰۴). به منظور تهیه مخلوطی یکنواخت، نمونه‌ها پس از خشک کردن با استفاده از آسیاب با توری یک میلی‌متر آسیاب شدند (Menke و Staingass, ۱۹۸۸). ترکیبات شیمیایی شامل مقدار ماده خشک، پروتئین خام، ماده آلی و خاکستر به روش AOAC (۲۰۰۵)، الیاف نامحلول در شوینده خشی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی طبق روش Van Soest (۱۹۹۴) تعیین شدند.

اندازه‌گیری مواد معدنی و ترکیبات فنولی: اندازه-گیری سدیم و پتاسیم با دستگاه فلیم‌فتومتر و کلسیم و فسفر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتری (Biochrom Libera- S22) (Behbahanizadeh Ali Ehaiai, ۱۹۹۹) اندازه‌گیری فلاؤونوئید کل با استفاده از آلومینیوم کلراید، ۱۰ میلی‌گرم کورستین با اتانول ۸۰ درصد رقیق شده و از رقت‌های مختلف کورستین (۲۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) به عنوان استاندارد استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی برهموم با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر از آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد محلول در اتانول و ۰/۱ میلی‌لیتر از پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. در نهایت لوله‌ها در دمای اتاق و در مکان تاریک به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس با دستگاه طیف سنج نوری در طول موج ۴۱۵ نانومتر در داخل کووت قرائت شدند (Cottica و همکاران, ۲۰۱۱). به-

با دمای ۳۹ درجه سانتی گراد قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت تمامی شیشه ها از بن ماری خارج و نمونه های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه متقابل چهار لایه صاف شده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا شد. سپس pH فاز مایع نمونه ها اندازه گیری شد. محتویات هضم نشده هر ویال جمع آوری شده و درون بوته های چینی با وزن مشخص انتقال یافت و به مدت ۴۸ ساعت در آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری محاسبه شد. بوته های چینی حاوی محتویات هضم نشده به مدت ۶ ساعت در کوره با دمای ۵۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. این کار به منظور تعیین مقدار خاکستر خام مواد همکاران (۲۰۰۲). جهت محاسبه توده میکروبی تولید شده از رابطه پیشنهاد شده Blummel و همکاران (۱۹۹۷) استفاده گردید.

$$MCP \text{ (mg)} = GP * (PF - 2.2)$$

در این رابطه، MCP تولید توده میکروبی (میلی گرم بر گرم ماده خشک)، PF فاکتور تسهیم و GP میلی لیتر گاز تولید شده (میلی لیتر بر گرم ماده خشک) در زمان ۲۴ ساعت می باشد.

عامل تفکیک بنا به تعریف برابر با نسبت میلی گرم ماده آلتی حقیقی هضم شده بر میلی لیتر حجم گاز خالص تولیدی می باشد. حداکثر مقدار توده میکروبی تولید شده با در نظر گرفتن زمانی از انکوباسیون که نرخ تولید گاز در آن زمان حداقل بوده و با در نظر گرفتن میلی گرم ماده آلتی حقیقی هضم شده در آن زمان محاسبه گردید. بازده مقدار توده میکروبی و بازده حداکثر مقدار توده میکروبی تولید شده با تقسیم توده و میکروب تولید شده بر مقدار ماده آلتی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون و مقدار گاز

دستگاه مبدل فشارسنج ثبت شد. حجم خالص گاز با کاستن میانگین گاز تولیدی ویال های بلانک از ویال های دارای نمونه حاصل شد.

برآورد فراسنجه های تولید گاز با کمک رابطه Orskov و McDonald (۱۹۷۹) انجام شد (رابطه ۱).

$$P = b(1 - e^{-ct}) \quad 1$$

در این معادله، P حجم تولید گاز در زمان t به صورت تجمعی، c ثابت نرخ تولید گاز، b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر و t مدت زمان انکوباسیون می باشد. قابلیت هضم ماده آلتی طبق روش Orskov و McDonald (۱۹۷۹)، انرژی قابل متابولیسم طبق روش Menke و Staingass (۱۹۸۸) و اسید های چرب کوتاه زنجیر با استفاده از معادله Makkar (۲۰۰۵) تخمین زده شد.

$$OMD (\%) = 14.88 + 0.899 GP + 0.45 CP_1 0.065 A$$

$$ME \text{ (MJ/kg DM)} = 2.20 + 0.136 GP + 0.0574 CP_2$$

SCFA (mmoL) = -0.00425 + 0.0222 GP در این معادلات، GP تولید خالص گاز در ۲۴ ساعت (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، CP₁ پروتئین خام (بر حسب درصد)، A مقدار خاکستر و CP₂ پروتئین خام (گرم در کیلو گرم ماده خشک) می باشد.

اندازه گیری قابلیت هضم در شرایط برون تنی:
اندازه گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته انجام شد (Theodoroue و همکاران، ۱۹۹۴). روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت. pH مخلوط بافر و مایع شکمبه توسط دستگاه pH متر الکترونیکی (مدل ۶۹۱، شرکت Metrohm) کنترل و به ۶/۸ رسانده شد. ۵۰ میلی گرم ماده خشک نمونه های آسیاب شده به همراه ۵۰ میلی لیتر بزاق مصنوعی و مایع شکمبه صاف شده به نسبت ۲ به ۱ در ویال های شیشه ای میلی لیتری ریخته و پس از دربوش گذاری، در بن ماری

تاثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی... / علی نقی‌زاده و همکاران

که در آن: $P = a + b(1-e^{-ct})$ پتانسیل تجزیه‌پذیری در زمان t ; a , بخش سریع تجزیه; b , بخش کند تجزیه; c , عدد پرسی; t , ثابت نرخ تجزیه و t : مدت زمان انکوباسیون کیسه‌ها در شکمبه می‌باشد. تجزیه‌پذیری مؤثر شکمبه (ED) به وسیله فرمول $(ED=a+b(b+c/c+k))$ محاسبه شد که در این فرمول k ، میزان نرخ عبور مواد شکمبه‌ای می‌باشد. داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد خطا انجام شد.

نتایج و بحث

تاثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی کاه کینوا: تاثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی کاه کینوا در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($P < 0.05$). عمل‌آوری، مقدار ماده خشک نمونه‌ها را کاهش داد. بیشترین مقادیر خاکستر خام در تیمارهای عمل‌آوری شده با مواد شیمیایی مشاهده شد که در مقایسه با تیمار شاهد حدود ۱۲ درصد افزایش در مقدار خاکستر مشاهده گردید. بین تیمارهای آزمایشی از نظر مقدار پروتئین خام اختلاف معنی‌داری وجود داشت؛ از این نظر، بالاترین مقدار پروتئین خام مربوط به تیمار عمل‌آوری شده با قارچ و پایین‌ترین مقدار مربوط به تیمار عمل‌آوری شده با ترکیبات شیمیایی بود. بین تیمارهای آزمایشی از نظر درصد الیاف نامحلول در شوینده ختی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما از نظر الیاف نامحلول در شوینده اسیدی تیمار عمل‌آوری شده با قارچ آسیریلیوس نایجر به طور معنی‌داری بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد.

تولیدشده محاسبه شد. به منظور اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی، مایع شکمبه صاف و به نسبت مساوی با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال مخلوط می‌شود. میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت تعیین گردید (Kung و Broderick، ۱۹۸۰). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. آنالیز داده‌های حاصل با رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS نسخه (۹/۱) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ در این رابطه، μ مقدار مشاهده شده در هر صفت، T_i میانگین کل، e_{ij} اثر تیمار و e_{ij} اثر خطای آزمایش می‌باشد.

تعیین تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای با روش کیسه‌های نایلونی: به منظور انجام آزمایش تجزیه‌پذیری، ۳ راس گوسفنده دارای فیستولاً شکمبه‌ای در جایگاه انفرادی نگهداری و در طول مدت آزمایش با جیره‌ای در سطح نگهداری تغذیه شدند. نمونه‌ها با استفاده از توری ۲ میلی‌متری آسیاب گردیدند. مقدار ۵ گرم نمونه در داخل کیسه‌هایی از جنس ابریشم مصنوعی دارای ابعاد 100×150 میلی‌متر و منافذی به قطر ۵۲ میکرومتر قرار داده شد. کیسه‌های حاوی نمونه برای زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت در شکمبه قرار داده شدند. پس از خروج آنها، عمل شستشو تا آنجا که آب خروجی از کیسه‌ها، کاملاً زلال و شفاف شود، ادامه یافت. کیسه‌های شسته شده به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. برای زمان صفر، کیسه‌ها تنها در آب شسته شده و سپس به آون منتقل گردیدند. نسبت ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی از طریق تعییرات وزنی محاسبه شد. برآورد فراستنجه‌های تجزیه‌پذیری با استفاده از معادله McDonald و Orskov (۱۹۷۹) بدین شرح انجام شد.

جدول ۱- تاثیر روش‌های مختلف عمل آوری شیمیابی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیابی کاه کینوا (درصد ماده خشک).

Table 1- Effects of chemical and biological processing methods on chemical composition of Quinoa straw (% DM)

P-Value	SEM	Treatments						Item
		آسپرژیلوس نایجر <i>Aspergillus Niger</i>	باسیلوس ساتیلیس <i>Bacillus Subtilis</i>	هیدروکسید سدیم Sodium hydroxide	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	شاهد Control		
0.0004	2.310	67.27 ^c	67.68 ^c	68.10 ^c	76.44 ^b	87.66 ^a	ماده خشک	
<0.0001	0.224	81.52 ^b	80.50 ^c	72.80 ^d	71.58 ^e	84.67 ^a	Dry Matter ماده آبی	
<0.0001	0.224	18.84 ^d	19.50 ^c	27.19 ^b	28.41 ^a	15.32 ^e	Organic Matter خاکستر خام	
<0.0001	0.205	19.6 ^a	17.05 ^b	14.06 ^c	14.12 ^c	17.3 ^b	Crude Ash پروتئین خام	
0.0020	0.304	3.96 ^a	2.30 ^b	1.70 ^c	2.53 ^b	3.56 ^a	Crude Protein چربی خام	
0.0129	0.832	18.00 ^a	16.20 ^{ab}	17.06 ^{ab}	15.20 ^b	15.00 ^b	Ether Extract الیاف نامحلول در شوینده	
0.8140	2.350	33.20	34.86	33.60	31.80	35.53	اسیدی Acid Detergent Fiber	
0.8145	2.830	39.16	37.90	33.35	32.47	41.37	Neutral Detergent Fiber الیاف نامحلول در شوینده خشک	
							کربوهیدرات‌های غیرالیافی Non Fibre Carbohydrates	

در هر ردیف، اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<0.05)

The means within a row without common letter differ (p<0.05).

آزاد می‌گردد. بدین ترتیب وزن اولیه نمونه‌ها کاهش پیدا می‌کند (Shojaosadati و همکاران، ۱۹۹۹). افزایش در مقدار خاکستر خام در تیمار عمل آوری شده با مواد شیمیابی همسو با نتایج Ghiasvand و همکاران (۲۰۱۲) و Baytok و همکاران (۲۰۰۵) بود. در تحقیق حاضر تیمارهای پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم دارای بالاترین مقدار خاکستر و پایین‌ترین ماده آبی بودند. با توجه به ماهیت شیمیابی هیدروکسید سدیم، افزایش مقدار خاکستر در تیمارهای عمل آوری شده کاملاً مورد انتظار می‌باشد (Dryden و Granzin، ۲۰۰۳). گزارش شده است که عمل آوری با هیدروکسید سدیم به دلیل نیاز به مقدار زیادی آب، به منظور حفظ pH در محدوده ۱۱/۵

نتایج این مطالعه همسو با نتایج Granzin و Khorvash و همکاران (۲۰۱۰)، Dryden و همکاران (۲۰۰۳)، Ghiasvand و همکاران (۲۰۱۸) و Alaei (۲۰۱۲) بود. کاهش در مقدار ماده خشک در تیمارهای عمل آوری شده همسو با نتایج Alemu و همکاران (۲۰۰۶) بود. هر چند در برخی مطالعات (۲۰۰۶) ماده خشک در تیمارهای عمل آوری شده با قارچ‌های پلوروتوس ساجور کاجو و پلوروتوس فلوریدا، افزایش یافته است. اثر قارچ‌ها در کاهش ماده خشک می‌تواند به خاطر مصرف مواد مغذی موجود در نمونه‌ها برای رشد و متابولیسم قارچ‌ها باشد؛ زیرا در حین عمل آوری، اتم‌های کربن موجود در مواد آبی به مصرف قارچ‌ها رسیده و در نهایت گاز دی اکسید کربن

تأثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی... / علی نقی‌زاده و همکاران

بالای پروتئین در میسیلیوم قارچ و در نتیجه گسترش میسیلیوم و تولید پروتئین سلولی روی بستر کشت باشد (Shamim و همکاران، ۲۰۱۶). در پژوهش حاضر، تیمار عمل‌آوری شده با قارچ باعث افزایش در الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شد. دلیل افزایش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی می‌تواند به این خاطر باشد که ابتدا اجزای سهل‌الهضم کاه برای استفاده در تولید توده زیستی مورد متابولیسم قرار می‌گیرند (Zadrazil، ۱۹۸۵).

تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر مقدار مواد معدنی و عوامل ضدتغذیه‌ای کاه کینوا: مقدار مواد معدنی و عوامل ضد تغذیه‌ای موجود در کاه کینوای عمل‌آوری شده با پراکسید هیدروژن، هیدروکسید سدیم، باکتری و قارچ در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر مواد معدنی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). دامنه تغییرات عناصر پر مصرف فسفر $0.113 - 0.230$ ٪، کلسیم $0.20 - 0.256$ ٪، سدیم $0.40 - 0.46$ ٪، پتاسیم $0.31 - 0.37$ ٪ و منیزیم $0.10 - 0.12$ گرم در کیلوگرم به دست آمد که سدیم بیشترین مقدار را داشت.

بیشترین مقدار فلاونوئید در تیمار شاهد (۰/۲۱۲) گرم در کیلوگرم ماده خشک) و کمترین مقدار در تیمارهای هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن به ترتیب 0.082 و 0.063 گرم در کیلوگرم ماده خشک مشاهده گردید. مقدار فنل کل به ترتیب در تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ (۱/۹۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و پراکسید هیدروژن (۰/۲۱۲ گرم در کیلوگرم ماده خشک) بالاترین و پایین‌ترین مقدار بود.

دارد، در نتیجه افزودن هیدروکسید سدیم به کاه به علت اثرات باقی‌مانده هیدروکسید سدیم، منجر به افزایش درصد خاکستر خام آن می‌شود (Ghiasvand و همکاران، ۲۰۱۲). با این نتیجه گیری می‌توان گفت که پایین آمدن مقدار ماده آلی در تیمارهای عمل‌آوری شده با ترکیبات شیمیایی نتیجه رقیق شدن مواد قندی و بالا رفتن مقدار خاکستر خام می‌باشد. افزایش غلظت خاکستر در تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ می‌تواند به علت ساپروفیت بودن قارچ و تامین مواد غذایی مورد نیاز خود از ترکیبات موجود در بستر کشت باشد که در مراحل اولیه رشد از همی‌سلولز و سلولز استفاده می‌کنند و در نهایت سبب کاهش غلظت بخش مواد آلی در بستر کشت می‌گردد (Jalk و همکاران، ۱۹۹۶).

مقدار پروتئین خام تیمارهای هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن در مقایسه با تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ کمتر بود. نشان داده شد که با عمل‌آوری کاه سویا با تیمار هیدروکسید سدیم باعث کاهش مقدار پروتئین خام در کاه می‌شود (Ghiasvand و همکاران، ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای عمل‌آوری کاه سویا با هیدروکسید سدیم باعث کاهش مقدار پروتئین خام در کاه می‌شود (Yalchi و همکاران، ۲۰۱۲). کاه دلیل کاهش آن باشد (Yalchi و همکاران، ۲۰۱۲). عمل‌آوری با پراکسید هیدروژن باعث می‌شود پروتئین خام و میزان ماده آلی در کاه گندم و بقایای نیشکر پایین آید که در مطالعه حاضر مقدار پروتئین در تیمار هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن کاهش یافت. در این مطالعه تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ سبب افزایش معنی‌داری در غلظت پروتئین خام شدند. افزایش غلظت پروتئین خام ممکن است به دلیل میزان

جدول ۲- تاثیر روش‌های مختلف عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر مقدار مواد معدنی و عوامل ضد تغذیه‌ای کاه کینوا (میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک)
Table 2- Effects of chemical and biological processing methods on minerals and anti-nutrition factors of *Quinoa straw* (mg/kg DM)

P-Value	SEM	Treatments						Item
		آسپرژیلوس نایجر <i>Aspergillus Niger</i>	باسیلوس <i>Bacillus Subtilis</i>	هیدروکسید سدیم Sodium hydroxide	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide	شاهد	Control	
0.3690	0.039	0.230	0.178	0.113	0.157	0.144		فسفور
0.4780	0.815	3.16	3.90	4.50	4.20	2.56		P کلسیم
0.5250	5.66	129.23	118.40	130.33	123.16	120.83		Ca سدیم
0.0184	1.651	37.40 ^a	33.40 ^{ab}	32.96 ^{ab}	31.83 ^b	34.70 ^{ab}		Na پتاسیم
0.2400	1.254	11.66	12.10	8.46	8.96	9.93		K منیزیم
0.0125	0.037	0.107 ^{ab}	0.105 ^{ab}	0.063 ^b	0.082 ^b	0.212 ^a		Mg فلاونوئید
0.0010	0.221	1.92 ^a	1.55 ^{ab}	0.212 ^c	0.348 ^{dc}	0.924 ^{bc}		فل کل flavonoid
								Total Phenol

در هر ردیف، اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<0.05).

The means within a row without common letter differ (p<0.05).

محافظت می‌کنند. در مطالعه‌ای Salminen و همکاران (2004) نشان داده شد که برگ‌های جوان و برگ‌های بالغ حاوی مقدار بیشتری تانن قابل هیدرولیز و فلاونوئید گلیکوزید بودند؛ در حالی که الگوی متضادی برای پروآنتوسیانیدین‌ها مشاهده شد. ارتباط بین میزان کل فنل‌ها و کل تانن‌ها در آزمایش حاضر مخالف یافته‌های Yousef Elahi و همکاران (2014) و Makkar و Singh (1993) بود که یک ارتباط مثبت و بالایی را بین میزان کل فنل‌ها و کل تانن‌ها ذکر کرده بودند. در بین خود روش‌های عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی نیز اختلاف معنی داری وجود داشت.

تأثیر روش‌های مختلف عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر فرستنجه‌های تولید گاز کاه کینوا: نتایج مربوط به تاثیر عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر فرستنجه‌های تولید گاز کاه کینوا نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی از نظر پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز اختلاف معنی داری وجود داشت (جدول

در مطالعه‌ای بیان شد که بیشتر لگوم‌های نواحی گرمسیری حاوی مقادیر کلسیم از ۸/۶ تا ۱۰/۲ گرم بر کیلوگرم ماده خشک هستند (Minson، ۱۹۹۰). در گزارشی Rubanza و همکاران (۲۰۰۶) و Mtui و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که مقدار کلسیم در محدوده ۶/۶ تا ۳۵/۶ گرم بر کیلوگرم ماده خشک است. غلظت تانن در گیاهان در درجه اول به وسیله ژنیک و سپس شرایط محیطی کنترل می‌شود، برای مثال دمای بالا، تنفس کم‌آبی، شدت بالای نور و کیفیت ضعیف خاک میزان تانن را در گیاهان افزایش می‌دهند Odenyo و Osuji (2013) و Bunglavan (1997) دریافتند اثرات محرب تانن‌ها شامل مهار آنزیم‌های گوارشی و اثرات سمی بر روی میکروب‌های شکمبه است. با این وجود، فنل‌ها و تانن‌ها وقتی که در سطوح پایین (کمتر از ۵ درصد) هستند، مفید هستند؛ زیرا آن‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاه عمل می‌کنند و پروتئین‌ها را از تخریب بلورین

تأثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی... / علی نقی‌زاده و همکاران

قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنگیر نسبت به شاهد شد. موافق با پژوهش حاضر، Khajeh و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده کرد تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ آسپرژیلوس نایجر و تریکو درما، سبب کاهش پتانسیل و نرخ تولید گاز شدند. در آزمایش‌های مختلف طی عمل‌آوری با قارچ بین تولید گاز و فراسنجه‌های تولید گاز همبستگی منفی وجود داشت که با نتایج Ndlovu و Nherera (۱۹۹۷)، Larbi و همکاران (۱۹۹۸) و Abdulrazak و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت داشت. همچنین بین تولید گاز و فراسنجه‌های تولید گاز با پروتئین خام همبستگی مثبتی وجود داشت که با نتایج Larbi و همکاران (۱۹۹۸) مطابقت داشت.

۳. در مقایسه با تیمار شاهد، تیمارهای عمل‌آوری شده با هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن پتانسیل تولید گاز را کاهش ($P < 0.05$) و تیمارهای عمل‌آوری شده با باکتری و قارچ بدون تاثیر بودند ($P > 0.05$). پایین‌ترین نرخ تولید گاز (۰.۷۳۳ میلی‌لیتر در ساعت) در تیمار عمل‌آوری با قارچ مشاهد شد ($P < 0.05$). از نظر فراسنجه‌های تخمینی انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم ماده آلی و غلظت اسیدهای چرب کوتاه زنگیر نیز بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). از این نظر تیمار شاهد بالاترین مقدار را از نظر این فراسنجه‌ها داشتند.

در پژوهش حاضر، عمل‌آوری کاه کینوا با تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی باعث کاهش مقدار

جدول ۳- تأثیر تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی بر فراسنجه‌های تولید گاز کاه کینوا

Table 3- Effect of chemical and biological processing methods on gas production parameters of *Quinoa straw*

P-Value	SEM	Treatments						Item
		Aspergillus niger	آسپرژیلوس نایجر	بازیلوس ساپتیلیس	سدیم سدیم	پراکسید هیدروژن هیدروژن	شاهد Control	
0.0155	1.017	50.65 ^{ab}	50.95 ^{ab}	48.53 ^b	51.38 ^{ab}	52.58 ^a		قابلیت هضم ماده آلی (درصد) Organic matter digestibility (% DM)
0.0154	0.153	7.60 ^{ab}	7.65 ^{ab}	7.28 ^b	7.71 ^{ab}	7.90 ^a		انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلو گرم) Metabolizable energy (MJ/Kg)
0.0156	0.024	0.87 ^{ab}	0.83 ^{ab}	0.82 ^b	0.89 ^{ab}	0.92 ^a		اسیدهای چرب کوتاه زنگیر (میلی مول) Short chain fatty acid (m mol)
0.0004	0.742	102.90 ^a	101.40 ^a	97.48 ^b	96.86 ^b	101.99 ^a		پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر به ازاء ۲۰۰ میلی گرم DM) Gas production potential (ml/200 mg DM)
0.0102	0.001 ₇	0.0733 ^c	0.0750 ^{bc}	0.0842 ^a	0.0806 ^{ab}	0.0806 ^a _b		نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) Rate of gas production (ml/h)

در هر ردیف، اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).

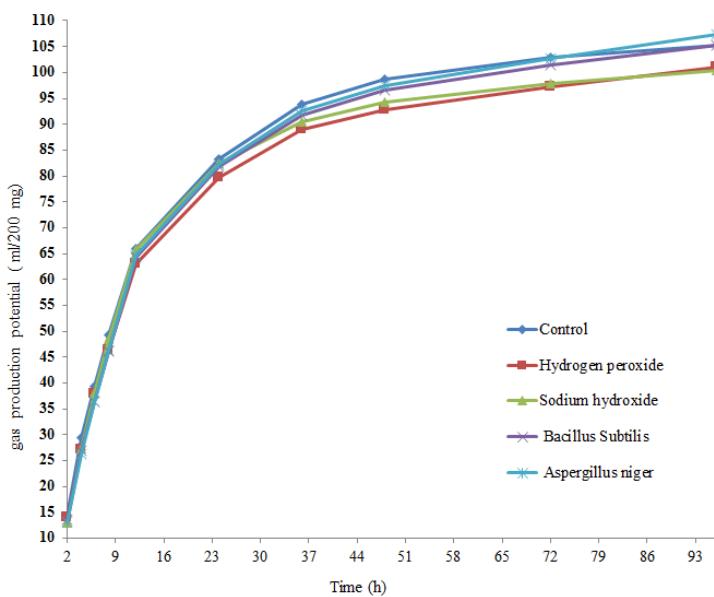
The means within a row without common letter differ ($p < 0.05$).

اثرات عوامل ضد تعذیه‌ای خوراک فراهم می‌کند و همکاران، Salamatazar (۲۰۱۲). با توجه به اینکه

اندازه‌گیری گاز تولیدی در شرایط برون‌تنی اطلاعات مفیدی را در مورد سرعت و میزان هضم و

کوتاه زنجیر و گازها هستند. میکروارگانیسم‌ها سویسراهای تجزیه شده را برای بدست آوردن انرژی تخمیر می‌کنند. در این فرآیند، میکروب‌ها تکثیر شده و به قسمت‌های پایین دستگاه گوارش انتقال یافته و در آنجا، به عنوان منبع اصلی پروتئین برای حیوان میزبان، هضم می‌شوند.

میزان گاز تولیدی وابسته به ترکیب شیمیایی مادهٔ خوراکی می‌باشد، عواملی از جمله گونه، زمان برداشت و مرحلهٔ بلوغ گیاه و نیز روش‌های مختلف عمل آوری بر ترکیب شیمیایی و میزان گاز تولیدی تأثیر می‌گذارند. در شکمبهٔ خوراک تجزیه شده و یا برای تولید توده میکروبی استفاده شده یا تخمیر می‌شود. فرآورده‌های نهایی فرآیند تخمیر اسیدهای چرب



شکل ۱- تأثیر تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی بر روند تولید گاز بقایای کاه کینوا

Figure 1- Effect of chemical and biological processing methods on *in vitro* gas production.

محلول باشد (Sommart و Hormazipour، ۲۰۰۹). همکاران، (۲۰۰۰). همچنین بین منبع کربوهیدرات و منبع نیتروژن برای سیستیک تولید گاز اثر متقابل وجود دارد. هر چه هم‌زمانی بین تجزیه‌پذیری کربوهیدرات و نیتروژن بهتر باشد و نیز نسبت نیتروژن به کربوهیدرات متناسب‌تر با نیاز میکروب باشد، بهبود در فرآیند تخمیر در محیط و افزایش تولید گاز قابل انتظار است (Dewhurst و همکاران، ۱۹۹۵).

افزایش مقدار دیواره سلولی و الیاف نامحلول در شوینده خشی و اسیدی موجب کاهش کربوهیدرات‌های غیر الیافی و قندهای محلول گردیده و در نهایت باعث کاهش در سهولت هضم و تولید

مطابق پژوهش‌های انجام گرفته، منابع خوراکی که میزان الیاف نامحلول در شوینده خشی کمتری دارند، پتانسیل تولید گاز آن‌ها بالا است. همچنین با افزایش نسبت بخش محتوای دیواره سلولی لیگنینی شده، تخمیر کمتر صورت گرفته و منجر به کاهش در تولید گاز می‌شود (Sommart و همکاران، ۲۰۰۰). به دلیل وجود همبستگی منفی بین الیاف نامحلول در شوینده خشی و اسیدی، نرخ و حجم گاز تولیدی (Haddi و همکاران، ۲۰۰۳)، کاهش در میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی باعث افزایش گاز تولیدی شد. این ممکن است در نتیجه‌ی افزایش کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها به دلیل دریافت منابع کربوهیدرات

کربن و متان) و یا غیرمستقیم حاصل از بافر شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (دی‌اکسید کربن از بافر بیکربنات آزاد می‌شود). برای علوفه‌ها حدود ۵۰ درصد از کل تولید گاز از بافری شدن اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و باقیمانده مستقیماً از تخمیر سوبسترا تولید می‌شود (Blummel و Orskov, ۱۹۹۳). تولید مستقیم گاز در نتیجه تخمیر سوبسترا به استات و بوتیرات تولید می‌شود. تخمیر سوبسترا به پروپیونات تنها به صورت غیر مستقیم تولید گاز می‌کند و تولید گاز در نتیجه تولید پروپیونات نسبتاً کمتر می‌باشد گاز در نتیجه تولید پروپیونات نسبتاً کمتر می‌باشد (Van Soest, ۱۹۶۶ و Hungate, ۱۹۹۴). با افزایش گاز تولیدی، قابلیت هضم ماده خشک نیز افزایش می‌باشد. این موضوع نشان‌دهنده آن است که تولید گاز یک بخش لاینک از تخمیر شدن مواد خوراکی است (Mansuri و همکاران, ۲۰۰۳).

عمل‌آوری مواد لیگنوسلولزی با ترکیبات شیمیایی، منجر به شکافت پوندهای استری بین لیگنین و همی-سلولز، کاهش بلورینگی و افزایش تخلخل سطح ماده شده که یاعت تسهیل در فرآیند هیدرولیز می‌شوند (Cheng و Sun, ۲۰۰۲). نتیجه تمامی تغییرات حاصل از عمل‌آوری مواد لیگنوسلولزی افزایش قابلیت حل ترکیبات دیواره سلولی است. گزارش‌های بسیاری در زمینه بهبود فرآیند تخمیر و تولید گاز در اثر استفاده از ترکیبات شیمیایی (Liu و همکاران, ۲۰۰۳) ارائه شده است.

تأثیر روش‌های مختلف عمل‌آوری بر قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری کاه کینوا: نتایج حاصله بر تأثیر روش‌های عمل‌آوری بیولوژیکی و شیمیایی بر قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم ماده آلی، عامل تفکیک، فراسنجه‌های تخمیری شکمبهای و تولید پروتئین میکروبی در جدول ۴ نشان داده شده است. بین تیمارهای آزمایشی از نظر قابلیت هضم ماده خشک و قابلیت هضم ماده آلی اختلاف معنی‌داری

گاز می‌گردد (Getachew و همکاران, ۱۹۹۸؛ Makkar, ۲۰۰۵).

در پژوهش حاضر، قابلیت هضم ماده آلی، انرژی قابل متابولیسم و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در تیمار شاهد به ترتیب ۵۲/۵۸ درصد، ۷/۹۰ مگا ژول در کیلوگرم، ۰/۹۲۴ میلی لیتر به دست آمد که از سایر تیمارها بالاتر بود. تولید گاز یک فراسنجه‌ی مهم برای شناسایی قابلیت هضم و تخمیر نهایی و ساخت پروتئین میکروبی از مواد اولیه به‌وسیله میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد (Sommart و همکاران, ۲۰۰۰). بالا بودن تولید گاز بینگر بالا بودن انرژی قابل متابولیسم و همچنین نیتروژن قابل تخمیر و سایر مواد مغذی لازم برای فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد. نشان داده شده است که حجم گاز تولیدی منعکس کننده تخمیر مواد خوراکی به تولید اسیدهای چرب زنجیر کوتاه است. این بحث می‌تواند برآوردی از قابلیت هضم ظاهری باشد (Orskov و Blummel, ۱۹۹۳). مهمترین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شامل استات، پروپیونات و بوتیرات هستند. این اسیدها از دیواره دستگاه گواش جذب و برای مورد استفاده قرار گرفتن به عنوان منبع انرژی مورد متابولیسم قرار می‌گیرند. غلظت انرژی اسیدهای چرب کوتاه زنجیر ۱۴/۶، ۲۰/۸ و ۲۴/۹ مگا ژول برای هر کیلوگرم از به ترتیب استات، پروپیونات و بوتیرات می‌باشد (Moss, ۱۹۹۳). تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر همراه با تولید گازها به ویژه متان و دی‌اکسیدکربن می‌باشد. متان دارای غلظت انرژی ۵۵/۶ مگاژول بر کیلوگرم (Moss, ۱۹۹۳) می‌باشد که تولید آن علاوه بر اینکه یک گاز گلخانه‌ای است، نشان دهنده اتلاف انرژی خوراک است.

به طور دقیق، میزان گاز تولیدی با مقدار و نسبت استات و بوتیرات نیز مرتبط می‌باشد. تولید گاز در تکینیک تولید گاز یا مستقیماً نتیجه تخمیر (دی‌اکسید

و همکاران (۱۳۹۸) بود. در دیواره سلولی، همیسلولز در پیوند با سلولز قرار دارد. هضم میکروبی سلولز تا زمانی که همیسلولز برداشته یا شکسته نشود، محدود خواهد بود. از طرفی هضم میکروبی همیسلولز به دلیل پیوند آن با لیگنین و اسیدهای فنلی پایین است. بنابراین لیگنین زدایی باعث حل شدن بیشتر همیسلولز و در نتیجه افزایش هضم همیسلولز و سلولز خواهد شد (Chaudhry, ۱۹۹۸). عمل آوری مواد الیافی با ترکیبات شیمیایی، موجب تورم دیواره سلولی، کاهش بلورینگی و انسجام سلولز می‌شود. چنین موادی عوامل هیدروکسیل واحدهای گلوکز در مولکول سلولز را در معرض واکنش قرار داده و شدت بلورینگی سلولز را کاهش می‌دهند. این امر اثر پوشانندگی موادی مثل لیگنین و سیلیس را بر سلولز کاهش داده و آمادگی دیواره سلولی را برای هیدرولیز افزایش می‌دهد (Darai Garmekhani, ۲۰۱۲).

وجود داشت ($P<0.05$). تیمارهای عمل آوری شده با باکتری در مقایسه با سایر تیمارها پایین‌ترین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P<0.05$). تیمارهای عمل آوری شده با ترکیبات شیمیایی در مقایسه با تیمار شاهد و تیمارهای عمل آوری شده با باکتری و قارچ بالاترین قابلیت هضم ماده آلی را داشتند ($P<0.05$).

دامنه عامل تفکیک بین تیمارهای آزمایشی از ۳/۱۴ تا ۴/۸۲ متغیر بود و بالاترین و پایین‌ترین مقدار آن به ترتیب مربوط به تیمارهای هیدروکسید سدیم و باکتری بود. از نظر مقدار تولید پروتئین میکروبی نیز بالاترین مقدار مربوط به شاهد و پایین‌ترین مقدار مربوط به نمونه عمل آوری شده با باکتری بود. در این مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در بقایای کاه کینوا عمل آوری شده با پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم بالاتر بود که در توافق با نتایج بابایی و همکاران (۱۳۹۴) و در تضاد با نتایج قاسمی

جدول ۴- تأثیر عمل آوری‌های شیمیایی و بیولوژیکی بر فرآیندهای تخمیری و قابلیت هضم کاه کینوا

Table 4- Effect of chemical and biological processing methods on fermentation parameters and digestibility of *Quinoa straw*

P-Value	SEM	treatments ¹						Item
		آسپرژیلوس نایجر	آسپرگیل <i>Niger</i>	باسیلوس <i>Bacillus Subtilis</i>	هیدروکسید سدیم	پراکسید هیدروژن هیدروپرکسید	شاهد Control	
0.0010	2.180	73.80 ^b	65.80 ^c	80.40 ^{ab}	82.40 ^a	77.60 ^b	77.60 ^b	قابلیت هضم ماده خشک DMD ¹ (%)
0.0004	1.930	72.60 ^b	68.38 ^c	80.12 ^a	80.62 ^a	76.10 ^b	76.10 ^b	قابلیت هضم ماده آلی OMD ² (%)
0.0006	0.132	3.44 ^{bc}	3.14 ^c	4.82 ^a	4.32 ^a	4.11 ^{ab}	4.11 ^{ab}	عامل تفکیک PF ³ (mg/ml)
0.0006	8.760	106.75 ^c	77.67 ^d	130.00 ^b	121.21 ^b	149.00 ^a	149.00 ^a	پروتئین میکروبی MB ⁴ (mg/gDM)
0.0020	8.650	233.21 ^{ab}	252.05 ^a	191.02 ^c	211.66 ^{bc}	202.11 ^c	202.11 ^c	بازده تولید گاز Gas yield ⁵ (ml/g)
0.0013	0.023	0.36 ^{bc}	0.29 ^c	0.42 ^{ab}	0.33 ^c	0.46 ^a	0.46 ^a	بازده تولید پروتئین میکروبی EMB ⁶
0.0970	0.038	6.76	6.82	6.89	6.84	6.92	6.92	pH

1- Dry Matter Digestibility, 2- Organic Matter Digestibility, 3- Partitioning Factor, 4- Microbial biomass, 5- Gas Production Efficiency (ml), 6- Efficiency of microbial biomass.

در هر ردیف، اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند ($P<0.05$).

The means within a row without common letter differ ($P<0.05$).

دامنه عامل تفکیک بین تیمارهای آزمایشی متغیر بود و بالاترین و پایین‌ترین مقدار آن به ترتیب مربوط به تیمارهای عمل‌آوری شده با هیدروکسید سدیم و تیمار باکتری بود. سلول در هضم میکروبی تا زمانی که همی‌سلولز شکسته یا برداشته نشود محدود خواهد بود. از طرفی نیز هضم میکروبی همی‌سلولز در به دلیل پیوند آن با اسیدهای فنلی و لیگنین پایین است. Chaudhry (۱۹۹۸) نشان داد که یکی از عواملی که باعث حل شدن بیشتر همی‌سلولز می‌شود، لیگنین‌زاپی است در نتیجه افزایش هضم سلولز و همی‌سلولز خواهد شد. عمل‌آوری ترکیبات الیافی با ترکیبات شیمیایی موجب کاهش بلورینگی، انسجام سلولز و تورم دیواره سلولی می‌شود (Darai Garmekhani, 2012)، اثر پوشانندگی موادی مثل سیلیس و لیگنین را بر سلولز کم کرده و آمادگی دیواره سلولی را برای هیدرولیز بالا برده (Chaudhry, ۱۹۹۸) و اثر بازدارندگی اسیدهای فنلی در هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی را نیز محدود یا حذف می‌کنند. بنابراین عمل‌آوری شیمیایی کاه کینوا باعث بهبود چشمگیری در قابلیت هضم سلولز صورت می‌گردد. Yalchi و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند که هیدروکسید سدیم می‌تواند باعث شکسته شدن پیوندهای بین کربوهیدرات‌های دیواره سلولی و لیگنین شود که این امر باعث می‌شود تا قابلیت استفاده از آن‌ها برای باکتری‌های هضم کننده بیشتر شود.

در این مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در تیمارهای عمل‌آوری شده با ترکیبات شیمیایی در مقایسه با تیمارهای دیگر بالاتر بود. در تضاد با نتایج حاضر، Chaudhry (۱۹۹۷) گزارش کرد که عمل‌آوری کاه گدم با پراکسید هیدروژن، قابلیت هضم ماده خشک را افزایش داد. پراکسید هیدروژن باعث شکستن پیوندهای استری بین همی‌سلولز و

همچنین اثر بازدارندگی اسیدهای فنلی نیز در هضم کربوهیدرات‌های ساختمانی به وسیله ترکیبات شیمیایی حذف یا محدود می‌شود (Chaudhry, ۱۹۹۸). بنابراین بهبود چشمگیری در قابلیت هضم سلولز در کاه عمل‌آوری شده با مواد شیمیایی صورت می‌گیرد. همسو با نتایج این مطالعه، Yalchi و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که هیدروکسید سدیم باعث شکسته شدن پیوندهای بین لیگنین و کربوهیدرات‌های دیواره سلولی شده و قابلیت استفاده از آن‌ها را برای باکتری‌های هضم کننده بیشتر می‌نماید. این امر باعث افزایش قابلیت هضم می‌شود. همسو با نتایج این مطالعه، Khorvash و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی تاثیر هیدروکسید سدیم بر قابلیت هضم برون‌تنی کاه نشان دادند که علی‌رغم کاهش در مقدار دیواره سلولی، قابلیت هضم تاثیر قرار نگرفت. پراکسید هیدروژن باعث شکسته شدن پیوندهای استری بین همی‌سلولز و لیگنین از دیواره سلولی می‌شود که به ذرات ریز تبدیل می‌شود که محتویات الیافی آن از هم می‌پاشد و به صورت معلق در می‌آید. عمل‌آوری کاه سویا با هیدروکسید در افزایش قابلیت هضم آن تاثیر دارد. همسو با نتایج این مطالعه گزارش (۱۹۸۸) Sundstut کرد که استفاده از هیدروکسید سدیم قابلیت هضم ماده آلی کاه چاودار را در شرایط آزمایشگاهی از ۱۷۵ گرم در کیلوگرم به ۷۷۵ گرم در کیلوگرم افزایش داد. در مطالعه Al-Masri (۲۰۰۵) افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در نتیجه استفاده از هیدروکسید سدیم گزارش شده است. اما در مطالعه‌ای بهبودی در قابلیت هضم ماده آلی در اثر افزودن هیدروکسید سدیم حاصل نشد (Chaji و همکاران, ۲۰۱۰). یکی از فاکتورهای مهم در قابلیت هضم مصرف ماده خشک الیاف غلظت نیتروژن می‌باشد.

بیولوژیکی بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تجزیه پذیری موثر ماده خشک کاه کینوا در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که روش‌های مختلف عمل آوری تاثیر معنی‌داری بر تجزیه‌پذیری کاه کینوا داشتند ($P < 0.05$). در بین روش‌های شیمیایی و بیولوژیکی، هیدروکسید سدیم دارای بالاترین مقدار بخش سریع تجزیه ($55/32$ درصد) بود. نمونه‌های عمل آوری شده با باکتری و قارچ به‌طور معنی‌داری باعث کاهش بخش سریع تجزیه و افزایش بخش کند تجزیه شدند ($P < 0.05$). از نظر نرخ ثابت تجزیه-پذیری تیمار پراکسید هیدروژن از نرخ بالاتری (0.072 درصد در ساعت) برخوردار بود. تیمار هیدروکسید سدیم بالاترین ($95/40$ درصد) و تیمار قارچ پایین‌ترین پتانسیل تجزیه‌پذیری ($88/99$ درصد) را داشتند. به طور کلی، با نرخ عبور 3 درصد در ساعت تیمارهای عمل آوری شده با پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم از بالاترین تجزیه‌پذیری موثر و تیمار عمل آوری شده با قارچ از پایین‌ترین تجزیه-پذیری موثر برخوردار بودند.

تأثیر روش‌های عمل آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر روند تجزیه‌پذیری کاه کینوا در زمان‌های مختلف پس از انکوباسیون در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشخص است تیمارهای پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم از نرخ تجزیه-پذیری بالاتری برخوردار بودند. در نقطه زمانی پایانی انکوباسیون تیمار عمل آوری شده با قارچ در نفطه پایین‌تری قرار دارد.

لیگنین از دیواره سلولی می‌شود. این عمل باعث می-شود که کاه به ذرات ریزتر تبدیل شود تا محتویات الیاف از هم پاشیده و به صورت معلق در آید. در تغذیه نشخوارکنندگان پروتئین میکروبی تولید شده به عنوان منبع پروتئین و بازده پروتئین میکروبی اهمیت بسزایی دارد. در تحقیق حاضر عامل تفکیک کاه کینوا در محدوده $3/14 - 4/42$ به دست آمد. بیشترین مقدار به ترتیب در تیمار هیدروکسید سدیم و کمترین آن در باکتری مشاهده شد. Blummel و همکاران (۱۹۹۷) مقدار عامل تفکیک در خوراک‌های متعارف در محدوده $4/41 - 2/75$ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر است. یکی از عوامل افزایش عامل تفکیک از محدوده متعارف وجود عوامل ضد تغذیه‌ای در نمونه خوراک است. عوامل ضدتغذیه‌ای در مسیر هضم و تخمیر از نمونه خوراک شسته شده و در ناپدید شدن ماده خشک سهم به سزایی دارند، بدون اینکه در فرآیند تولید گاز نقش داشته باشند. در این تحقیق، میزان توده میکروبی تولید شده در پایان 24 ساعت انکوباسیون در کاه کینوا 149 میلی‌گرم به‌ازای گرم ماده خشک به دست آمد. تیمارهای شاهد و هیدروکسید سدیم بیشترین میزان این صفت را دارا بودند. نتایج حاصله نشان داد که مقدار بازده تولید گاز تولیدی پس از 24 ساعت انکوباسیون در تیمار شاهد مقدار 202 میلی‌لیتر به دست آمده و تمام تیمارها باعث افزایش بازده تولید گاز شدند.

تأثیر عمل آوری‌های شیمیایی و بیولوژیکی بر فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه کینوا: نتایج حاصل از تأثیر روش‌های عمل آوری شیمیایی و

تأثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی... / علی نقی‌زاده و همکاران

جدول ۵- تأثیر عمل‌آوری‌های شیمیایی و بیولوژیکی بر فرستنده‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه کینوا

Table 3- Effect of chemical and biological processing methods on Degradability coefficients of *quinoa straw*

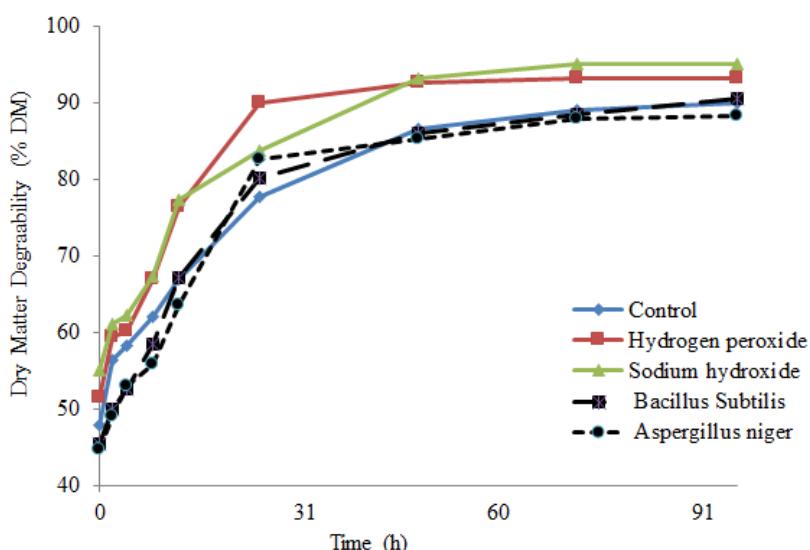
ED	PD	پتانسیل تجزیه‌پذیری موثر	ضرائب تجزیه‌پذیری			Treatments
			c	b	A	
74.80 ^{bc}	90.46 ^c		0.047 ^b	40.18 ^b	50.21 ^b	شاهد Control
81.50 ^a	93.94 ^b		0.072 ^a	42.81 ^{ab}	51.20 ^b	پراکسید هیدروژن Hydrogen peroxide
81.33 ^a	95.40 ^a		0.054 ^b	40.37 ^b	55.32 ^a	هیدروکسید سدیم Sodium hydroxide
75.75 ^b	90.01 ^c		0.054 ^b	45.51 ^a	44.62 ^c	باسیلوس ساپتیلیس <i>Bacillus Subtilis</i>
73.29 ^c	88.99 ^a		0.056 ^b	45.55 ^a	43.53 ^c	آسپرگیلوس نایجر <i>Aspergillus niger</i>
0.710	0.168		0.003	0.965	0.796	SEM
<0.0001	<0.0001		0.0093	0.0048	<0.0001	P-Value

a: بخش سریع تجزیه، b: بخش کند تجزیه،

a, Rapidly degraded fraction (%); b, Slowly degraded fraction (%); c, Rate of degradation (fraction/h); PD, Potential degradability; ED, Effective degradability (%).

در هر ردیف، اعداد با حروف غیر مشابه با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<0.05).

The means within a column without common letter differ (p<0.05).



شکل ۲- تأثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر روند تجزیه‌پذیری کاه کینوا

Figure 2- Effect of chemical and biological processing methods on *in situ* dry matter degradation at different times of incubation.

دسترسی آنزیم‌ها به برخی از نقاط پلیمر سلولز جلوگیری می‌کند. عمل‌آوری مواد لیگنوسلولزی در درجه اول به منظور بالا بردن دسترسی به سطح سلولز صورت می‌گیرد. عمل‌آوری مواد الیافی با ترکیبات

در مواد لیگنوسلولزی، سلولز یک پلیمر خطی از گلوكز بوده که با همی‌سلولز پیوند برقرار کرده و توسط لیگنین احاطه شده است. لیگنین یک کمپلکس سه بعدی از ماتریکس پلی‌آروماتیک بوده که از

تجزیه، پتانسیل تجزیه‌پذیری و تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و ماده آلی کاه کلزا در اثر عمل آوری با هیدروکسید سدیم + پراکسید هیدروژن و نیز آب نسبت به شاهد افزایش یافت (Ghiasvand و همکاران، ۲۰۱۱). یون‌های هیدروکسیل باعث متورم شدن سلولز، شکسته شدن پیوندهای هیدروژنی بین سلولز و همی‌سلولز و هیدرولیز پیوندهای استری پلی-ساکاریدهای دیواره سلولی شد و در نتیجه محتویات دیواره سلولی از هم پاشیده و به صورت معلق در می-آیند. در این مطالعه تیمارهای عمل آوری شده با باکتری و قارچ در مقایسه با سایر تیمارهای دارای مقدار پایین‌تری بخش سریع تجزیه بوده و از تجزیه‌پذیری مؤثر پایین‌تری برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که روش‌های مختلف عمل آوری تاثیرات متفاوتی بر ارزش تغذیه‌ای کاه کینوا داشتند. از نظر ترکیب شیمیایی عمل آوری با قارچ آسپرژیلوس نایجر به طور معنی-داری مقدار پرتوئین خام را افزایش داد. با این حال، با در نظر گرفتن پتانسیل تخمیری و قابلیت تجزیه‌پذیری به نظر می‌رسد که عمل آوری با مواد شیمیایی عملکرد بهتری داشتند به طور کلی، پیشنهاد می‌شود در صورت فراهمی امکانات، برای بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه کینوا از مواد شیمیایی هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن استفاده شود.

شیمیایی باعث کاهش بلورینگی، انسجام سلولز و موجب متورم شدن دیواره سلولی می‌شود (Harmsen و همکاران، ۲۰۱۰). چنین موادی موجب می‌شوند عواملی که در هیدروکسیل واحدهای گلوکز موجود در ملکول سلولز است در معرض واکنش‌ها قرار گرفته و شدت بلورینگی در سلولز کاهش می‌باشد. این عمل اثر پوشانندگی مثل سیلس و لیگنین را بر سلولز کم می‌کند. به این شکل آمادگی دیواره سلولی را برابر هیدرولیز بالا می‌برد. به طور کلی، به نظر می‌رسد که با عمل آوری شیمیایی مواد لیگنوسلولزی برخی از بازدارنده‌های فیزیکی و شیمیایی هضم از جمله پیوند لیگنوسلولزی را از بین می‌برد و در نتیجه مواد حاوی انرژی مثل سلولز و همی‌سلولز از لیگنین آزاد شده و به عبارت دیگر سطح تماس الیاف لیگنوسلولزی با آنزیم‌های میکروبی افزایش می‌باشد. در مطالعه‌ای با بررسی اثرات هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن و اکسید کلسیم بر تجزیه‌پذیری شکمبهای کاه کندم، افزایش در تجزیه‌پذیری گزارش شده است (Chaudhry، ۲۰۰۰).

افزودن ترکیبات قلیایی (هیدروکسید سدیم) به بقایا باعث صابونی شدن پیوندهای استری بین اسیدهای فنولیک و پلی ساکاریدهای باند شده با لیگنین می‌شود. این باعث افزایش قابلیت هضم دیواره سلولی می‌شود که در نتیجه آن بخشی از پیوندها شکسته می‌شود (Masaaki و Hidenori، ۲۰۰۰). گزارش شده است که بخش‌های کند تجزیه، ثابت نرخ

منابع

- Abdulrazak, S.A., Fujihara, T., Ondiek, T. and Orskov, E.R. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia from Kenya. Animal Feed science and technology, 85: 89-98.
- Alaei, A. 2018. Evaluation of nutritional value of *Vicia Faba* residues processed with some chemical compounds. MSc Thesis. Gonbad Kavous University 91 pp. (In Persian).
- Aleme, T., Chairatanyuth, P., Vijchulata, P. and Tudsri, S. 2006. Production and Utilization of crop residue in three agro ecological zones of Eastern Shoa Zone, Ethiopia. Kasetsart Journal, 40: 643-651.

- Ali Ehaiai, M., and Behbahanizadeh, A.A. 1999) Methods of chemical analysis of soil and plants. Soil and Water Research Institute of Iran, 2(982). (In Persian)
- Al-Masri, M.R. 2005. Nutritive value of some agricultural wastes as affected by relatively low gamma irradiation levels and chemical treatments. *Bioresource Technology*, 96: 1737-1741.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC. USA.
- Babayi, M., Ghanbari, F., Gharehbash, A.M. and Bayat Kouhsar, J. 2015. Investigation on the nutritional value of processed vetch wastes (vigna radiata) with electron beam, hydrogen peroxide and hydrobromic acid using gas production technique and batch culture method. *Journal of Ruminant Research*, 3(1): 1-20. (In Persian)
- Baytok, E., Aksu, T., Karsli, M.A. and Muruz, H. 2005. The effects of formic acid, molasses and inoculant as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29: 469-474.
- Blümmel, M., and Ørskov, E.R. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40: 109–119.
- Blummel, M., Makkar, P.S. and Becker, K. 1997. *In vitro* gas production, a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77: 24-34.
- Broderick, G.A. and Kung, J.H. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Animal Science*, 63: 64-75.
- Bunglavan, S.J. and Dutta, N. 2013. Use of tannin as organic protectants of proteins in digestion of ruminants. *Journal of Livestock Science*, 4: 67-77.
- Chaji, M., Mohammadabadi, T., Mamouie, M, and Tabatabaei, S. 2010. The effect of processing with high steam and sodium hydroxide on nutritive value of sugarcane pith by *in vitro* gas production. *Journal of Animal and Veterinary Advance*, 9: 1015-1018.
- Chaudhry, A.S. 1997. Washing and filtration of wheat straw treated with sodium hydroxide alone or with hydrogen peroxide to modify cell wall composition and *in vitro* digestibility. *Australasian Journal of Agricultural Science*. 37: 617-621.
- Chaudhry, A.S. 1998. Nutrient composition, digestion and rumen fermentation in sheep of wheat straw treated with calcium oxid, sodium hydroxid and alkaline hydrogen peroxide. *Animal Feed Science and Technology*. 74: 315-328.
- Chaudhry, A.S. 2000. Rumen degradation *in sacco* in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. *Animal Feed Science and Technology*, 83: 313-323.
- Cottica S. M., Sawaya, A.C., Eberlin, M.N., Franco, S.L., ZeoulaL, M. and Visentainer, J.V. 2011. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 22: 929-935.
- Darai Garmekhani, A. 2012. Optimizing the production of fermentable sugars from rapeseed lignocellulosic residues using new pretreatments. PhD. Food Science and Technology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Faculty of Agriculture and Natural Resources. 250pp. (In Persian)
- Dewhurst, R.J., Hepper, D. and Webster, A.J.F. 1995. Comparison of *in sacco* and *in vitro* techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of a range of dietary ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, 51: 211-229.
- FAO. 2011. Quinoa, An ancient crop to contribute to world food security. Regional Office for Latin America and the Caribbean. PP, 63.
- Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H. and Becker, K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds, a review. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 261-281.
- Getachew, G., Depiters, E.J. and Robinson, P.H. 2002. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculther*, 58: 54-58.
- Ghasemi, S., Naserian, A.A., Valizadeh, R., Behgar, M. and Mosavi Shalmai, M.A. 2019. The effects gamma irradiation, sodium hydroxide, urea and polyethylene glycol on phenolic

- compounds, *in vitro* gas production kinetics and microbial protein synthesis of pistachio by-products. *Journal of Ruminant Research*, 7(2): 97-112. (In Persian)
- Ghasvand, M., Rezayazdi, K. and Dehghan Banadaki, M. 2011. The effects of different processing methods on chemical composition and ruminal degradability of canola straw and its effect on fattening performance of male Holstein calves. *Journal of Animal Science Researches (Agricultural Science)*, 22: 93-104. (In Farsi).
- Granzin, B.C. and Dryden, G.M. 2003. Effects of alkalis, oxidant and urea on the nutritive value of Rhodes grass (*chloris gayana* cv. Callide). *Animal Feed Science and Technology*, 103: 113-122.
- Haddi, M.L., Filacorda, S., Meniai, k., Rollin, F. and Susmel, P. 2003. *In vitro* fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stage maturity. *Animal Feed Science and Technology*, 104: 215-225.
- Hans Joachim, G., Jung, H.G. and Fernando, R. 1992. Cell wall compositions degradability of forage stems following chemicals biological delignification. *Journal of Science Food Agriculture*, 58: 347-355.
- Harmsen, P., Huijgen, W., Bermudez, L. and Bakker, R. 2010. A review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. *Food and Biobased Research*, 1184: 1-54.
- Hidenori, A.B.E. and Masaaki, Y. 2000. Effects of ammunition on dry matter digestibility of grasses and legums. *Journal of Animal Science*, 9: 7-21.
- Hormazipour, H. 2009. Determining the nutritional value of six types of fodder plants in Sistan. Ministry of Science, Research and Technology - Zabul University - Faculty of Agriculture Master's Degree. 85pp. Food and Biobased Research.
- Hosseini, S.H., Karizaki, A.R., Biabani, A., Nakhzari Moghaddam, A. and Taleiy, F. 2020. Investigation of changes in physiological characteristics and yield of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) under different cultivation date. *Journal of Crop Production*. 13(2): 99-116.
- Hungate, R.E. 1966. *The Rumen and Its Microbes*. Academic Press, NY, 533 pp.
- Jacobsen, S.E., Mujica, A. and Jensen, C.R. 2003. The resistance of quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) to adverse abiotic factors. *Food Reviews International*, 19(1-2): 99-109
- Jalc, D., Nerud, F., Zitnan, R. and Siroka, P. 1996. The effect of white-rot Basidiomycetes on chemical composition and *In vitro* digestibility of wheat straw. *Folia Microbiol*, 41: 73-75.
- Jamali, S., sharifan, H., hezarjaribi, A. and sephavand, N.A. 2016. The effect of different levels of salinity on germination and growth indices of two cultivars of Quinoa. *the journal of water and soil resource conservation*, 6 (1): 87-98. (In Persian).
- Khajeh, E., Bayat Kouhsar, J., Ghanbari, F. and Talei, F. 2020. Effect of chemical and biological processing methods on chemical composition, gas production and digestibility of wheat straw. *Animal Science Research (Agricultural Science)*, 30: 41-57. (In Persian)
- Khorvash, M., Kargar, S., Yalchi, T. and Ghorbani, G.R. 2010. Effect of calcium oxide and calcium hydroxide on the chemical composition and *in vitro* digestibility of soybean straw. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8: 356-359. (In Persian).
- Kung, JL, Stokes, M.R. and Lin, C.J. 2004. Silage additives, in *Silage Science and Technology* (Agronomy Series No. 42). D. R. Buxton, R. E. Muck, and H.J. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.
- Larbi, A., Smith, J. W., Adekunle, I.O., Raji, A.M, and Ladipo, D.O. 1998. Chemical composition, rumen degradation, and gas production characteristics of some multipurpose fodder trees and shrubs during wet and dry seasons in humid tropics. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 81-96.
- Leng, R.A. 1991. Application of biotechnology to nutrition of animal in developing countries. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Liu, j.Y., Yuan, W.Z., Ye, J. and Wu, Y. 2003. Effect of tea (*Camellia sinensis*) saponin addition on rumen fermentation *in vitro*. In matching herbivore nutrition to ecosystems

- biodiversity. Tropical and subtropical agro systems. Pages 561-564 in Proc. 6th International Symposium on the Nutrition of Herbivore, Merida, Mexico.
- Makkar, H.P. 2005. *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal of Feed Science and Techmology*, 123: 291-302.
- Makkar, H.P.S. and Singh, B. 1993. Effect of storage and urea addition on detanification and *in sacco* dry matter digestibility of mature oak (*Quercus incana*) leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 41: 247-259.
- Malick, C.P. and Singh, M.B. 1980. In plant Enzymology and Histo Enzymology, Kalyani Publishers, New Dehli.
- Mansuri, H., Nikkhah, A., Rezaeian, M., Moradi Shahraback, M. and Mirhadi, S.A. 2003. Determination of Roughages Degradability through *In vitro* Gas Production and Nylon Bag Techniques. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 34: 495-507.
- Menke, K.H. and Steingass, H.H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Journal of Animal Research and Development*. 28p.
- Menke, K.H., Raab, L., Solewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agriculture Science*, 93: 217-222.
- Moss, A.R. 1993. Methane, Global warming and production by animals. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK. Chalcombe publications.
- Mtui, D.J., Lekule, F.P., Shem, M.N., Ichinohe, T. and Fujihara, T. 2009. Comparative potential nutritive value of grasses, creeping legumes and multipurpose trees commonly in sub humid region in the Eastern parts of Tanzania.
- Ndlovu, L.R. and Nherera, F.V. 1997. Chemical composition and relationship to *in vitro* gas production of Zimbabwean browsable indigenous tree species. *Animal Feed Science and Technology*, 69: 121-129.
- Orskov, E.R., and McDonald, I.M. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agriculture Science*, 92: 499-503.
- Osugi, P.O. and Odenyo, A.A. 1997. The role of legume forage as supplements to low quality roughage-ILRI experience. *Animal Feed Science and Technology*, 69: 27-38.
- Ramezanpour, S.S., Soltankhah, H., Sifty, S. and Salehi, M. 2013. The first report of the successful cultivation and propagation of vegetable caviar (*Quinoa*) in Golestan province. Exhibition of research achievements of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Persian)
- Rubanza, C.D.K., Shem, M.N., Ichinohe, T. and Fujihara, T. 2006. Polyphenolics and mineral composition of selected browse tree species leaves native to north western Tanzania traditional fodder banks. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 4(1): 328-332.
- Salamatazar, M., Salamatdoust-nobar, R. and Maheris-sis, N. 2012. Evaluation of the effects of thymus vulgar on degradability kinetics of canola meal for ruminant using *in vitro* gas production technique. *Journal of Cell and Animal Biology*, 6: 164-168.
- Salehi, A. 2016. Determination of chemical composition, gas production and *in vitro* fermentation parameters of tomato pulp and pistachio hull treated by *Pleurotus sahor cajo*. MSc Thesis. Bu-AliSina University. 91pp (In Persian).
- Salminen, J.P., Ossipov, V., Haukioja, E. and Pihlaja, K. 2001. Seasonal variation in the content of hydrolysable tannins. *Phytochemistry*, 57: 15-22.
- Shamim, A., Ghazali, Z. and Albinsson, P.A. 2016. An integrated model of corporate brand experience and customer value co-creation behaviour. *International Journal of Retail and Distribution Management*, 44 (2): 139– 158.
- Sharari, M., Jahan, Latibari, A., Guillet, A., Aurousseau, M., Mouhamadou, B., Rafeiee, G.h. Mirshokra, A. and Parsapaghoush, D. 2011. Application of the with rot fungus phanerochaete chrysosporium in biotreatment of bagasse effluent. *Springer Science and Business*, 22: 421-

430.

- Shojaosadati, S.A., Faraidouni, R., Madadi-Nouei, A. and Mohammadpour, I. 1999. Protein enrichment of lignocellulosic substrates by solid state fermentation using *Neurospora Sitophila*. *Resources Conservation Recycling*, 27: 73-78.
- Sommart, k., Parker, D. S., Rowlinson, P. and Wanapat, M. 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an *in vitro* system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 13: 1084-1093.
- Sun, Y. and Cheng, J.Y. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production, a review. *Bioresource Technology*, 83: 1-11.
- Sundstut, F. 1988. Straw and other fibrous by-products as feed. *Livestock Production Science*, 19: 137-157.
- Tan, M. and Yondem, Z. 2013. A new crop for human and animal nutrition: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Alinteri*, 25: 62-66.
- Taosi, M. and sepehvand, N.A. 2013. The effect of planting date on the yield and phonological and morphological characteristics of different genotype of the new quinoa plant in Khuzestan. The first international congress and the 13th Iranian genetics congress. Shahid beheshti. Tehran. Iran. (In Persian)
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 48: 185-97.
- Van Schooten, H.A. and Pinxterhuis, J.B. 2003. Quinoa as an alternative forage crop in organic dairy farming. In Optimal forage systems for animal production and the environment. Proceedings of the 12th Symposium of the European Grassland Federation, Pleven, Bulgaria, 26-28 May 2003 (pp. 445-448). Bulgarian Association for Grassland and Forage Production (BAGFP)
- Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. (Comstock Publishing Associated, a division of Cornell University Press, Ithaca, NY, USA).
- Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43, 1452-1459.
- Yalchi, T., Kargar, S.h., Khorvash, M, and Ghorbani, G.R. 2012. Effect of sodium hydroxide on chemical compositions and *in vitro* digestibility of soybean straw. The 5th Iranian Congress on Animal Science. Isfahan University of Technology (IUT), Isfahan, Iran. (In Persian).
- Yang, I., Cao, J., Jin, Y., Chang, H.M., Jameel, H., Phillips, R. and Li, Z. 2012. Effect of sodium carbonate pretreatment on chemical compositions and enzymatic saccharification of rice straw. *Bioresource Technology*, 124: 283-291.
- Yousef Elahi, M., Moslemi Nia, M.Z.M., Salem, A., Mansouri, H., Olivares-Perez, J.A., Cerrillo-Soto, M.E. and Kholif, A. 2014. Effect of poly ethylene glycolon *in vitro* gas production kinetics of *Prosopis cineraria* leaves at different growth stages. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 3175.
- Zadrazil, F. 1985. Screening of fungi for lignin decomposition and conversion of straw into feed. *Angewandte and Boyanic*, 59: 443-452.