

## " Research Paper "

# The Effect of Autoclaving Process on Pathogenic Microorganisms, Chemical Compounds, Activity of Various Enzymes and Mineral Concentration of Processed Ruminant Fluid

Fariba Reazi Sarteshnizi<sup>1</sup> and Ali Moharrery<sup>2</sup>

1- Postdoctoral researcher of Shahrekord University, Shahrekord, Iran  
(Corresponding author: Faribarezaei38@yahoo.com)

2- Professor, Department of Animal Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Iran  
Received: 13 April, 2023 Accepted: 25 November, 2023

### Extended Abstract

**Introduction and Objective:** Every day, a large amount of rumen fluid is discarded in Iranian slaughterhouses, which contains a large amount of microbial protein, volatile fatty acids (VFAs), enzymes, microorganisms, vitamins and minerals. On the other hand, it has a large amount of ammonia and phosphorus, which when disposed of in slaughterhouses, its nutrients enter the soil and waterways and cause environmental pollution. Therefore, it is important to find ways to continuously use rumen fluid. The benefits of recycling these wastes are primarily the reduction of environmental pollution and then the production of a feed source for ruminants. In order to destroy pathogenic microorganisms, rumen fluid can be autoclaved. It can also be dried to remove moisture. The spray drying method is a simple, fast and also an economical method to obtain powder from a solution or a liquid suspension (such as an enzyme suspension) and due to the short drying time and relatively low temperature, the spray drying method is It has been successfully used for heat sensitive materials. Because in the drying method, the materials are exposed to high temperature for a few seconds. Covering materials should be used, some carbohydrates, gums, proteins and chitosan are used. Polysaccharides such as maltodextrin are an excellent choice for carrier materials due to their stability, abundance in nature, and low price, and they protect sensitive compounds from the high temperature of the spray drying method. Therefore, this research was carried out with the aim of autoclaving and destroying pathogenic microorganisms on the chemical compounds, the activity of various enzymes, and essential and deficient mineral elements of rumen fluid dried by spray drying with 1% maltodextrin.

**Material and Methods:** Rumen fluid was taken from the slaughterhouse and after straining, it was autoclaved at 121°C for 40 minutes. In order to dry the rumen liquid, the spray drying method was used, and because in this method the liquid is exposed to high temperature for several seconds, maltodextrin was used. A fresh rumen fluid sample was dried with a spray dryer at an inlet temperature of 168 degrees Celsius, an outlet temperature of 85 degrees Celsius and an air flow of 8 liters per minute. A sample of rumen fluid was autoclaved at 121°C for 40 minutes and then dried with a spray dryer with inlet temperature of 172°C, outlet temperature of 85°C and air flow of 8 liters per minute. The other sample was dried by adding 1% (weight/volume) of maltodextrin with a spray dryer with an inlet temperature of 172 degrees Celsius, an outlet temperature of 85 degrees Celsius and an air flow of 8 liters per minute. The next sample was dried by adding 1% maltodextrin to autoclaved rumen liquid by spray drying method with inlet temperature of 168°C, outlet temperature of 79°C and air flow of 8 liters per minute. A fresh rumen fluid sample and autoclaved fresh rumen fluid were used as negative and positive controls, respectively. The treatments include 1) Fresh Rumen Fluid, 2) Autoclaved Fresh Rumen Fluid, 3) Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method, 4) Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method, 5) Fresh rumen Fluid Dried by Spray Drying Method with 1% Maltodextrin and 6) Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying with 1% Maltodextrin.

Pathogenic microorganisms include: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, coliform, *Staphylococcus aureus*, non-aureus staphylococcus, *Strep agalactiae*, *Strep obris*, chemical compounds including: percentage of dry matter, protein, ether extract and ash and activity of various enzymes including: carboxy methylcellulase, microcrystalline cellulase (Avislase), alpha-amylase and enzyme activity of filter paper and the concentration of some mineral elements including: calcium, phosphorus, magnesium, silver, boron, barium, beryllium, cobalt, chromium, manganese, lead, strontium, zinc, lithium, iron, copper, aluminum and silicon were determined.

**Results:** The results showed that by autoclaving, the concentration of pathogenic microorganisms in the rumen fluid reached zero. The percentage of dry matter and the percentage of crude protein were the highest in the treatment of freshly autoclaved rumen liquid with spray drying method. Dried rumen fluid with 1% maltodextrin had the highest activity of polysaccharides degrading enzymes compared to fresh rumen fluid. The concentration of elements calcium, magnesium, silver, boron, barium, beryllium, cobalt, chromium, manganese, lead, strontium, zinc was the highest in rumen liquid dried by spray drying method ( $P < 0.01$ ). The concentration of phosphorus element was the highest by spray drying with the addition of 1% maltodextrin ( $P < 0.01$ ). The concentration of lithium element was the highest in autoclaved and dried rumen fluid with 1% maltodextrin ( $P < 0.01$ ). The concentration of iron, copper, aluminum and silicon elements was the highest in autoclaved and dried rumen liquid by spray drying method. Autoclaving killed pathogenic microorganisms and retained about 50% of the activity of various enzymes.

**Conclusion:** Based on the results of this research, it is recommended to autoclave the rumen fluid in order to eliminate pathogenic microorganisms along with drying by spray drying method.

**Keywords:** Autoclaving, Enzyme activity, Maltodextrin, Rumen fluid, Spray drying



## "مقاله پژوهشی"

## تأثیر فرآیند اتوکلاو کردن بر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنزیم‌های مختلف و غلظت عناصر معدنی مایع شکمبه فرآوری شده

فریبا رضائی سرتشنیزی<sup>۱</sup> و علی محمدری<sup>۲</sup>

۱- پژوهشگر پسا دکتری دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران (نویسنده مسوول: Faribarezaei38@yahoo.com)

۲- استاد گروه علوم دامی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۴

صفحه: ۳۳ تا ۴۱

## چکیده مبسوط

**مقدمه و هدف:** روزانه مقدار زیادی مایع شکمبه در کشتارگاه‌های ایران دور ریخته می‌شود که دارای مقدار زیادی پروتئین میکروبی، اسیدهای چرب فرار، آنزیم‌ها، میکروارگانیسم‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند. از طرف دیگر دارای مقدار زیادی آمونیاک و فسفر بوده که وقتی در کشتارگاه‌ها دفع شود، مواد مغذی آن وارد خاک و راه‌های آبی می‌شود و باعث آلودگی زیست محیطی می‌شود. از این‌رو یافتن روش‌هایی برای استفاده مداوم از مایع شکمبه حائز اهمیت است. مزایای بازیافت این ضایعات در وهله اول کاهش آلودگی محیط زیست است و پس از آن تولید یک منبع خوراکی برای نشخوارکنندگان است. به‌منظور از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌توان مایع شکمبه را اتوکلاو کرد. همچنین برای از بین رطوبت می‌توان آن را خشک کرد. روش خشک کردن پاششی یک روش ساده، سریع و همچنین یک روش اقتصادی برای هدست آوردن پودر از یک محلول یا یک سوسپانسیون مایع (مثل یک سوسپانسیون آنزیمی) است و به علت زمان کوتاه خشک کردن و درجه حرارت نسبتاً کم، روش خشک کردن پاششی به‌طور موفقیت آمیزی برای مواد حساس به حرارت استفاده شده است. به‌دلیل اینکه در روش خشک کردن مواد به‌مدت چند ثانیه در معرض درجه حرارت زیاد قرار می‌گیرند. بایستی از مواد پوشاننده استفاده کرد که بعضی از کربوهیدرات‌ها، صمغ‌ها، پروتئین‌ها و کیتوزان استفاده می‌شود. پلی‌ساکاریدهایی مانند مالتودکسترین به‌علت پایداری، فراوانی در طبیعت و قیمت پایین آن یک انتخاب عالی برای مواد حامل هستند و باعث محافظت ترکیبات حساس از درجه حرارت بالای روش خشک کردن پاششی می‌شود. بنابراین این تحقیق با هدف اتوکلاو کردن و از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بر روی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنزیم‌های مختلف و عناصر معدنی پرنیاز و کم نیاز مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه ۱ درصد مالتودکسترین صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** مایع شکمبه از کشتارگاه گرفته شد و بعد از صاف کردن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ دقیقه اتوکلاو شد. به‌منظور خشک کردن مایع شکمبه از روش خشک کردن پاششی استفاده شد و چون در این روش مایع به‌مدت چند ثانیه در معرض درجه حرارت زیاد قرار می‌گیرد از مالتودکسترین استفاده شد. یک نمونه مایع شکمبه تازه با دستگاه خشک کن پاششی و درجه حرارت ورودی ۱۶۸ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. یک نمونه مایع شکمبه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ دقیقه اتوکلاو شد و سپس با دستگاه خشک کن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۷۲ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. نمونه دیگر با افزودن ۱ درصد (وزنی/حجمی) مالتودکسترین با دستگاه خشک کن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۷۲ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. نمونه بعدی با افزودن ۱ درصد مالتودکسترین به مایع شکمبه اتوکلاو شده با روش خشک کردن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۶۸ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۷۹ درجه سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. یک نمونه مایع شکمبه تازه و مایع شکمبه تازه‌ی اتوکلاو شده به‌ترتیب به‌عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده شدند. بنابراین تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) مایع شکمبه تازه، (۲) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده، (۳) مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی، (۴) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی، (۵) مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به‌همراه مالتودکسترین ۱ درصد، (۶) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شامل: اشرشیاکلاسی، کلیسیلا پنومونیا، پروتئوس، سودوموناس آئروژینوزا، کلیفرم، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس غیر اورئوس، استرپ آگالاکتیک، استرپ اوربریس، ترکیبات شیمیایی شامل: درصد ماده خشک، پروتئین، عصاره اتری و خاکستر، فعالیت آنزیم‌های مختلف شامل: کربوکسی متیل سلولاز، میکروکریستالین سلولاز (آوبیلاز)، آلفا آمیلاز و فعالیت آنزیمی کاغذ صافی و غلظت برخی عناصر معدنی شامل: کلسیم، فسفر، منیزیم، نقره، بور، باریم، بریلیم، کبالت، کروم، منگنز، سرب، استرانسیم، روی، لیتیم، آهن، مس، آلومینیوم و سیلیسیم تعیین شدند.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که با اتوکلاو کردن غلظت میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مایع شکمبه به صفر رسید. درصد ماده خشک و درصد پروتئین خام در تیمار مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود. مایع شکمبه خشک شده به همراه مالتودکسترین ۱ درصد بیشترین فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدها را نسبت به مایع شکمبه تازه داشت. غلظت عناصر کلسیم، منیزیم، نقره، بور، باریم، بریلیم، کبالت، کروم، منگنز، سرب، استرانسیم، روی در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود ( $p < 0.01$ ). غلظت عنصر فسفر با روش خشک کردن پاششی با افزودن ۱ درصد مالتودکسترین بیشتر بود ( $p < 0.01$ ). غلظت عنصر لیتیم در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده به همراه مالتودکسترین ۱ درصد بیشتر بود ( $p < 0.01$ ). غلظت عناصر آهن، مس، آلومینیوم و سیلیسیم در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود. اتوکلاو کردن باعث از بین رفتن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شد و حدود ۵۰ درصد فعالیت آنزیم‌های مختلف را حفظ کرد.

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش اتوکلاو کردن مایع شکمبه به‌منظور از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به همراه خشک کردن با روش خشک کردن پاششی قابل توصیه است.

**واژه‌های کلیدی:** اتوکلاو کردن، خشک کردن پاششی، فعالیت آنزیمی، مالتودکسترین، مایع شکمبه

## مقدمه

محتویات شکمبه دام‌های کشتاری است. روزانه مقادیر زیادی محتویات به‌عنوان محصولات جانبی در کشتارگاه‌ها تولید می‌شوند (Said et al., 2015). تقریباً ۳/۵-۲/۷ کیلوگرم (بر اساس ماده خشک) از محتویات شکمبه‌ای به ازای هر رأس گاو در طول کشتار به‌دست می‌آید (Rios Rincon et al., 2010)

در کشتارگاه‌ها، فرآورده‌های جانبی متعددی نظیر خون، پوست، روده، چربی و غیره وجود دارند که همگی در صنایع مختلف کاربرد دارند، اما در حال حاضر، تنها فرآورده جانبی در کشتارگاه که با وجود مواد مغذی بسیار، مشکل آفرین شده،

محتویات خود را به صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد کنند. این تکنولوژی با حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در طول مدت تولید و نگهداری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب جلوگیری کرده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و متابولیکی آن‌ها می‌شود (Gharsallaoui et al., 2007). بنابراین ریزپوشانی می‌تواند خصوصیات مواد را به روش‌های مختلف افزایش دهد که بیشتر مربوط به پایداری و زنده ماندن این مواد است (De Vos et al., 2010). روش‌های ریزپوشانی شامل خشک کردن پاششی، سرد کردن پاششی، خشک کردن پاششی، به دام انداختن در لیپوزم، توده سازی، اکستروژن، پوشش بستن سیال، کوکریستالیزاسیون و پلیمریزاسیون سطحی است. یکی از معمول‌ترین تکنولوژی‌های استفاده شده برای ریزپوشانی روش خشک کردن پاششی است. این روش ساده، سریع و یک روش اقتصادی برای به دست آوردن پودر از یک محلول یا یک سوسپانسیون مایع (مثل یک سوسپانسیون آنزیمی) است (Bajsic and Kranjcevic, 2001). این روش به‌طور گسترده‌ای در صنایع داروسازی و صنایع مربوط به شیر برای خشک کردن شیر، آب پنیر، آنتی‌بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها به کار می‌رود (De Vos et al., 2010). مزیت اصلی این روش این است که موادی که به صورت محلول سوسپانسیون یا امولسیون هستند، در یک فرآیند یک مرحله‌ای به وسیله تبخیر رطوبت به پودر تبدیل می‌شوند (Namaldi et al., 2006) و به علت زمان کوتاه خشک کردن و درجه حرارت نسبتاً کم، روش خشک کردن پاششی به‌طور موفقیت آمیزی برای مواد حساس به حرارت استفاده شده است (Namaldi et al., 2006). علاوه بر این، خشک کردن پاششی که مایع را به شکل جامد تغییر می‌دهد، باعث حمل و نقل، ذخیره، بررسی آسان و مخلوط کردن و توزیع یکسان در فرمولاسیون غذایی در مقادیر کم می‌شوند (Tan et al., 2005). به دلیل اینکه در روش خشک کردن مواد به مدت چند ثانیه در معرض درجه حرارت زیاد، قرار می‌گیرند. بایستی از مواد پوشاننده استفاده کرد که بعضی از کربوهیدرات‌ها (نشاسته، مالتودکسترین و دکستروزها)، صمغ‌ها (صمغ عربی، صمغ آکاسیا، آلژینات‌ها و کارگینال‌ها)، پروتئین‌ها (پروتئین‌های شیر، آب پنیر و ژلاتین) (Aghbashlo et al., 2012) و کیتوزان (Gouin, 2004) استفاده می‌شود. پلی‌ساکاریدها از جمله مالتودکسترین به علت پایداری، فراوانی در طبیعت و قیمت پایین آن یک انتخاب عالی برای مواد حامل هستند (Fathi et al., 2014) و باعث محافظت ترکیبات حساس از درجه حرارت بالای روش خشک کردن پاششی می‌شود. مهم‌ترین مسئله در زمینه استفاده از ضایعات صنایع غذایی و کشاورزی بعد از فرآوری اطلاع از ارزش غذایی آن‌هاست (Fanoodi et al., 2022). قبلاً نشان داده شده که مایع شکمبه تازه، اتوکلاو شده یا سانتریفیوژ شده تأثیر مثبتی بر افزایش وزن و کاهش بروز اسهال در هنگام استفاده به عنوان افزودنی خوراک برای گوساله‌های شیرده دارد (Muscato et al., 2002). همچنین رضائی سرتشنیزی و همکاران (Muscato et al., 2020) اثر مثبتی بر سیستم ایمنی گوساله‌های شیری هنگام تغذیه با مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن

مقدار محتویات شکمبه با نوع حیوان نشخوارکننده، وزن بدن و مقدار متوسط آن که ۱۰ کیلوگرم در هر حیوان برای نشخوارکنندگان کوچک و ۴۰ کیلوگرم برای نشخوارکنندگان بزرگ است، متفاوت است (Abdeshahian et al., 2016). طبق مرکز آمار ایران سالیانه مقدار ۴۶۱۶۰ هزار کیلوگرم محتویات شکمبه‌ای از نشخوارکنندگان بزرگ و ۱۱۷۰۰۰ هزار کیلوگرم محتویات شکمبه‌ای از نشخوارکنندگان کوچک تولید می‌شود. در هر مترمکعب از محتویات شکمبه ۰/۵-۰/۶ مترمکعب فاز مایع وجود دارد که شامل سطوح بالایی از آمونیاک و فسفر است که وقتی در کشتارگاه‌ها دفع شود، مواد مغذی آن در خاک و راه‌های آبی دفع می‌شود و باعث آلودگی زیست محیطی می‌شود. از این رو یافتن روش‌هایی برای استفاده‌های مداوم از مایع شکمبه حائز اهمیت است (Tritt and Schuchardt, 1992). مزایای بازیافت این ضایعات در وهله اول کاهش آلودگی محیط زیست و پس از آن تولید یک منبع خوراکی برای نشخوارکنندگان است (Mondal et al., 2013). استفاده از ۱۵۰ گرم پلت محتویات شکمبه‌ای خشک شده در گاو میش باتلاقی مورد استفاده قرار گرفتن خوراک را بهبود داد و تعداد ژئوسپور قارچی را افزایش داد. بنابراین، تغذیه پلت محتویات شکمبه‌ای خشک شده به خاطر اینکه اثرات اقتصادی مثبت دارد و به کنترل آلودگی محیطی کمک می‌کند توصیه شده است (Seankamsorn et al., 2017).

مایع شکمبه می‌تواند به‌عنوان یک منبع غنی آنزیم‌های میکروبی مانند زایلاناز، گالاکتوزیداز، سلولاز، همی سلولاز و آلفا آمیلاز که هضم‌کننده ترکیبات کربوهیدرات‌های پیچیده هستند، مورد استفاده قرار گیرد (Shahravan et al., 2013; Yue and Ghoorchi, 2020). همچنین مایع شکمبه شامل میکروارگانیزم‌های مختلفی مانند باکتری‌ها، پروتوزوا و قارچ‌ها است که از طریق آنزیم‌هایشان نقش مهمی در فرآیند هضم ایفا می‌کنند (Fanoodi et al., 2022) و یک منبع متابولیت‌های میکروبی مانند پروتئین میکروبی، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب فرار، ویتامین‌ها و مواد معدنی به‌شمار می‌رود (Yue et al., 2013). برای از بین بردن میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا در مایع شکمبه، می‌توان روش اتوکلاو را در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ دقیقه به کار برد (Muscato et al., 2002).

رطوبت بالای مایع شکمبه وقتی از کشتارگاه‌ها جمع‌آوری می‌شوند یکی از مشکلاتی است که نیاز به راه‌حل مناسب دارد (Abouhief et al., 1999). یکی از خصوصیات ترکیبات زیست فعال شامل لیپیدها، ویتامین‌ها، پپتیدها، آنزیم‌ها، اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدانت‌ها و سلول‌های زنده مثل پروبیوتیک‌ها این است که در معرض غیر فعال شدن و تجزیه سریع می‌باشند (Gharsallaoui et al., 2007) و تا حد زیادی به خشک کردن و شرایط سیستم‌های غذایی آسیب پذیر هستند. یک روش جدید برای افزایش بازده و کاربرد اجزای خوراک استفاده از سیستم ریزپوشانی<sup>۱</sup> است (Gharsallaoui et al., 2007). از این رو ریزپوشانی به‌عنوان یک فن‌آوری برای قرار دادن مواد جامد، مایع و گاز در کپسول‌های کوچک مطرح است. کپسول‌هایی که می‌توانند

تحقیق فعالیت‌های هیدرولیتیک آنزیمی شامل کربوکسی متیل سلولاز (CMCase<sup>۱</sup>)، میکرو کریستالین سلولاز (آویسلاز)، آلفا آمیلاز و فعالیت آنزیمی کاغذ صافی در مایع شکمبه‌ای جمع آوری شده به‌وسیله روش (Agarwal *et al.*, 2000) اندازه گیری شد. برای تعیین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه با ۰/۵ میلی‌لیتر محلول کربوکسی متیل سلولاز (۱ گرم کربوکسی سلولز در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد) و ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ نرمال با pH ۶/۸ به‌طور کامل مخلوط شد. فعالیت میکرو کریستالین سلولاز (آویسلاز) به‌وسیله مخلوط کردن ۱ میلی‌لیتر محلول نمونه با ۱ میلی‌لیتر محلول میکرو کریستالین سلولز (۱ گرم آویسل در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ نرمال با pH ۶/۸ صورت گرفت. مخلوط‌ها برای ۶۰ دقیقه در ۳۹ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم نگه داشته شدند. برای تعیین فعالیت آلفا آمیلاز، ۰/۲۵ میلی‌لیتر نمونه به‌طور کامل با ۰/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات ۰/۱ نرمال با pH ۶/۸ و ۰/۲۵ میلی‌لیتر نشاسته (۱ گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده است) مخلوط و به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای تعیین غلظت فعالیت آنزیمی کاغذ صافی ۰/۵ گرم کاغذ صافی با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات با pH ۶/۸ و ۱ میلی‌لیتر نمونه مخلوط و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و جذب‌ها در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفومتر قرائت شد.

عناصر معدنی پرنیاز و کم نیاز با دستگاه طیف سنج نشری پلاسما جفت شده القایی اندازه گرفته شدند. در نمونه‌های مایع شکمبه تازه و مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده از اسید نیتریک استفاده شد و تا زمان هضم شدن در حمام آب گرم در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در نمونه‌های خشک شده و پودری برای تهیه خاکستر از روش هضم در دمای ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد در محلول هیدروکلریدیک اسید و اسید نیتریک استفاده شد. محلول حاصل سپس با کاغذ صافی صاف و آنگاه به دستگاه طیف سنج نشری پلاسما جفت شده القایی<sup>۱</sup> (مدل Genesis ساخت شرکت Spectro آلمان) تزریق شد و غلظت عناصر تعیین گردید.

کلید داده‌ها با استفاده رویه GLM و با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۴) آنالیز شدند. معادله مورد استفاده در پژوهش حاضر  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$  است. که در آن  $Y_{ij}$  مقادیر مشاهده تیمار  $i$  ام در تکرار  $j$  ام،  $\mu$  اثر میانگین،  $T_i$  اثر تیمار  $i$  ام و  $e_{ij}$  اثر خطای آزمایش مربوط به تیمار  $i$  ام در تکرار  $j$  ام است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال  $p < 0.05$  انجام گرفت.

## نتایج و بحث

### میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا

داده‌های مربوط به تعداد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زای مایع شکمبه اتوکلاو شده و نشده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی در جدول ۱ نشان داده شده است. با اتوکلاو کردن تعداد میکروارگانیزم‌های بیماری‌زایی که قبل از اتوکلاو کردن صفر نبودند، به صفر رسید. موسکاتو و همکاران (Muscato *et al.*, 2002) نیز برای از بین بردن پاتوژن‌های بیماری‌زا در مایع

پاششی گزارش کردند. بنابراین این تحقیق با هدف اتوکلاو کردن و از بین بردن میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا بر روی ترکیبات شیمیایی، فعالیت آنزیم‌های مختلف وعناصر معدنی پرنیاز و کم نیاز مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه ۱ درصد مالتودکسترین صورت گرفت.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در دانشگاه شهرکرد انجام شد. بدین‌منظور مایع شکمبه (از محتویات شکمبه گوسفند استفاده شد) از کشتارگاه صنعتی شهر بن گرفته شد و داخل یک فلاکس دارای آب ولرم (۳۹ درجه سانتی‌گراد) به آزمایشگاه منتقل گردید. سپس، مایع شکمبه حاوی مواد هضمی به‌وسیله یک مخلوط کن به مدت ۲ دقیقه ضمن تزریق گاز دی اکسید کربن همزده شد و با استفاده از یک پارچه توری و یک پارچه کتان ۴ لایه صاف گردید. یک نمونه مایع شکمبه تازه با دستگاه خشک کن پاششی (درساتک، ساخت کشور ایران)، و درجه حرارت ورودی ۱۶۸ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. یک نمونه مایع شکمبه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۰ دقیقه اتوکلاو شد (Muscato *et al.*, 2002) و سپس با دستگاه خشک‌کن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۷۲ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. نمونه دیگر با افزودن ۱ درصد (وزنی/حجمی) مالتودکسترین با دستگاه خشک کن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۷۲ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۸۵ سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. نمونه بعدی با افزودن ۱ درصد مالتودکسترین به مایع شکمبه اتوکلاو شده با روش خشک کردن پاششی با درجه حرارت ورودی ۱۶۸ درجه سانتی‌گراد، درجه حرارت خروجی ۷۹ درجه سانتی‌گراد و جریان هوا ۸ لیتر در دقیقه خشک گردید. یک نمونه مایع شکمبه تازه و مایع شکمبه تازه‌ی اتوکلاو شده به‌ترتیب به‌عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده شدند.

تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) مایع شکمبه تازه (FRF<sup>۱</sup>)، (۲) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده (AFRF<sup>۲</sup>)، (۳) مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SFRF<sup>۳</sup>)، (۴) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SAFRF<sup>۴</sup>)، (۵) مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به‌همراه مالتودکسترین ۱ درصد (SMFRF<sup>۵</sup>) و (۶) مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده خشک شده با روش خشک کردن پاششی به‌همراه مالتودکسترین ۱ درصد (SAMFRF<sup>۶</sup>) بودند. میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا اشرشیاکلاهی، کلیسیلا پنومونیا، پروتئوس، سودوموناس آئروژینوزا، کلیفرم‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس غیر اورئوس، استرپ آگالاکتیه، استرپ اوبریس، استرپ دیس آگالاکتیه با کشت در محیط‌هایی با غلظت مختلف در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی شمارش شدند. جهت تعیین ترکیب شیمیایی تیمارها (ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر) از روش‌های استاندارد آزمایشگاهی (AOAC, 2005) استفاده شد. در این

1- Fresh Rumen Fluid

2- Autoclaved Fresh Rumen Fluid

3- Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method

4- Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method with 1% Maltodextrin

5- Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method

6- Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying with 1% Maltodextrin

7- Carboxymethyl Cellulose

8- Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometer

شکمبه اتوکلاو کردن را پیشنهاد کردند و با استفاده از مایع شکمبه اتوکلاو شده نتایج مثبتی در افزایش وزن و کاهش اسهال مشاهده نمودند.

جدول ۱- تعداد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا مایع شکمبه قبل و بعد اتوکلاو کردن و خشک کردن با روش خشک کردن پاششی  
Table 1. Number of pathogenic microorganisms in rumen fluid before and after autoclaving and drying by spray drying method

Treatments <sup>1</sup> تیمارها <sup>1</sup>		Number of microorganism (cfu/gr) تعداد میکروارگانیسم‌ها (cfu/gr)
SAFRF	SFRF	
0.0	<3	Escherichia coli اشرشیاکلائی
0.0	0.0	Klebsiella pneumonia کلبسیلا پنومونیا
0.0	0.0	Proteus پروتئوس
0.0	0.0	Pseudomonas aeruginosa سودوموناس آئروژینوزا
0.0	<3	Coliform کلیرم
0.0	2.5×10 <sup>2</sup>	Staphylococcus aureus استافیلوکوکوس اورئوس
0.0	5×10 <sup>2</sup>	Non-aureus staphylococcus استافیلوکوکوس غیر اورئوس
0.0	0.0	Strep agalactiae استرپ آگالاکتیه
0.0	25	Strep disagalactia استرپ دیس آگالاکتیه
0.0	15	Strep Obris استرپ اوبریس
0.0	3.8×10 <sup>2</sup>	Total تعداد کل

<sup>1</sup> تیمارها شامل SFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی و SAFRR: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی،  
<sup>1</sup>The treatments include SFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method and SAFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method .

موجود می‌تواند به دلیل تنوع پوشش گیاهی و جیره مصرفی توسط نشخوارکنندگان مختلف در مکان‌های مختلف باشد. این تنوع همچنین می‌تواند به دلیل ترکیبات شیمیایی مرتع و گونه‌های حیوانی مختلف باشد (Gebrehawariat *et al.*, 2016). از آنجایی که در این پژوهش فرآیند اتوکلاو کردن صورت گرفته است، بنابراین این فرآیند با تغلیظ کردن مایع شکمبه باعث افزایش درصد ماده خشک و درصد پروتئین خام شده است. اگرچه در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده به روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین، درصد ماده خشک و درصد پروتئین کمتر بوده است که به نظر می‌رسد افزودن مالتودکسترین باعث این کاهش شده است و هدف ما انتخاب بهترین تیمار می‌باشد. همچنین افزایش درصد ماده خشک و پروتئین خام برای یک افزودنی خوراکی در دام دارای اهمیت نیست ولی این افزایش نشان می‌دهد که این فرآیند باعث کاهش ترکیبات شیمیایی مایع شکمبه نشد. افزودن ۱ درصد مالتودکسترین نیز نسبت به سایر تیمارها باعث حفظ درصد عصاره اتری و درصد خاکستر شد. مالتودکسترین بهترین حامل و پوشش دهنده است (Alloue *et al.*, 2007) و اثر محافظتی در برابر گرما در فرآیند خشک کردن پاششی دارد و باعث حفظ درصد عصاره اتری و خاکستر شد.

### ترکیبات شیمیایی

ترکیب شیمیایی مربوط به تیمارهای آزمایشی در جدول ۲ نشان داده شده است. اتوکلاو کردن به طور معنی‌داری ترکیب شیمیایی تیمارها را تحت تأثیر قرار داد ( $p < 0.01$ ). درصد ماده خشک و پروتئین خام در تیمار مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بودند و در تیمار مایع شکمبه خشک شده به همراه مالتودکسترین ۱ درصد کمترین بودند ( $p < 0.01$ ). درصد عصاره اتری و خاکستر در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد بیشترین بود و در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد کمترین بود ( $p < 0.01$ ). در مطالعه‌ای درصد رطوبت، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر مواد هضمی خشک شده گوسفندان کشتار شده به ترتیب ۵/۸۳، ۱۵/۵۲ و ۵/۱۷ درصد گزارش شد (Sakaba *et al.*, 2017). همچنین در تحقیق دیگری محتویات شکمبه گاوی خشک شده در آفتاب دارای ۸۵/۳۶ درصد ماده خشک، ۶/۸۶ درصد پروتئین خام، ۱/۲۲ درصد عصاره اتری و ۲۱/۵۴ درصد خاکستر بود (Gebrehawariat *et al.*, 2016) که تفاوت‌های

جدول ۲- آنالیز تقریبی مایع شکمبه فرآوری شده

Table 2. Approximate analysis of processed rumen fluid

P-Value سطح احتمال معنی‌داری	SEM	Treatments <sup>1</sup> تیمارها				Parameters (%) پارامترها (درصد)
		SAMFRF	SMFRF	SAFRF	SFRF	
<0.01	0.34	81.73 <sup>c</sup>	79.53 <sup>d</sup>	86.14 <sup>a</sup>	84.44 <sup>b</sup>	Dry Matter ماده خشک
<0.01	0.16	20.79 <sup>c</sup>	19.89 <sup>d</sup>	25.66 <sup>a</sup>	24.17 <sup>b</sup>	Crude Protein پروتئین خام
<0.01	0.19	2.23 <sup>c</sup>	3.68 <sup>a</sup>	2.82 <sup>b</sup>	2.91 <sup>b</sup>	Ether Extract عصاره اتری
<0.01	0.28	23.23 <sup>d</sup>	34.05 <sup>a</sup>	26.15 <sup>c</sup>	32.40 <sup>b</sup>	Ash خاکستر

<sup>1</sup> تیمارها شامل SFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش کردن پاششی، SAFRR: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی، SMRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد و SAMRF: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد

در هر ردیف حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است ( $P < 0.01$ ).

<sup>1</sup>The treatments include SFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method, SAFRR: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method, SMFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method with 1% Maltodextrin and SAMFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying with 1% Maltodextrin

In each row, dissimilar letters indicate a significant difference ( $P < 0.01$ ).

### فعالیت آنزیم‌های مختلف

فعالیت آنزیم‌های مختلف تیمارهای آزمایشی به صورت درصدی از فعالیت مایع شکمبه تازه در جدول ۳ گزارش شده است. مایع شکمبه تازه دارای ۲۷۴/۷۹ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، ۲۵/۸۸ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر میکروکریستالین سلولاز، ۸۷۹/۱۰ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر آلفا آمیلاز و ۱۷۳/۰۰ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر فعالیت آنزیمی کاغذ صافی بود. مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد، بیشترین فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدها را نسبت به مایع شکمبه تازه داشت ( $P < 0.01$ ). فعالیت کربوکسی متیل سلولاز و فعالیت آنزیمی کاغذ صافی در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده چه با افزودن مالتودکسترین ۱ درصد و چه بدون افزودن مالتودکسترین نسبت به مایع شکمبه تازه کمترین بود. همچنین فعالیت میکروکریستالین سلولاز و آلفا آمیلاز در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی نسبت به مایع شکمبه تازه کمترین بود ( $P < 0.01$ ). افزودن مالتودکسترین به همراه خشک کردن با روش خشک کردن پاششی باعث حفظ فعالیت آنزیم‌های مختلف تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدها نسبت به مایع شکمبه تازه شد. در توافق با نتایج این مطالعه، با افزودن هیدروکلئیدهای مالتودکسترین، صمغ گوار، آلژینات سدیم و کیتوزان به مایع شکمبه بیشترین فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدها با مالتودکسترین ۱ درصد مشاهده شد (Rezai Sarteshnizi *et al.*, 2018). بی‌آب شدن به وسیله روش خشک کردن پاششی ممکن است ساختار سه بعدی پروتئین را مشابه به دنا توره شدن تغییر دهد و ممکن است به کاهش کامل فعالیت آنزیمی منجر شود. تغییر در ساختار سه بعدی پروتئین معمولاً در حضور ترکیباتی مثل پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها یا نمک‌ها کمتر می‌شود (Alloue *et al.*, 2007). به‌علاوه، نیروهای برش که در نازل دستگاه رخ می‌دهند یا جذب سطحی آنزیم‌ها در سطح قطره ممکن است باعث دنا توره شدن شوند و از این رو فعالیت را کاهش دهند (Gebrehawariat *et al.*, 2016). اثر

محافظتی هیدروکلئیدها در رابطه با دنا توره شدن گرمایی گزارش شده است (Schüle *et al.*, 2008). پلی‌ساکاریدها به‌خاطر پایداری، فراوانی در طبیعت و قیمت پایین آن‌ها یک انتخاب عالی برای پایدار کننده‌ها و مواد حامل هستند (De Vos *et al.*, 2010) که در این میان، مالتودکسترین بهترین حامل و پوشش دهنده است (Alloue *et al.*, 2007). مکانیسم‌های مختلفی در مورد اینکه چگونه هیدروکلئیدها آنزیم‌ها را در طول روش خشک کردن پاششی پایدار می‌کنند، وجود دارد. اثر متقابل مستقیم هیدروکلئیدها با آنزیم‌ها و حفظ ساختار آنزیم به‌وسیله شکل‌گیری پیوندهای هیدروژون پیشنهاد شده است (Górka *et al.*, 2011). به‌علاوه، هیدروکلئیدها ممکن است به‌عنوان یک تله آب نزدیک به سطح آنزیم‌ها فعالیت کنند یا آن‌ها به‌وسیله جذب ترکیب پروتئینی خاص در یک ماتریس شیشه‌ای بی‌شکل بسیار چسبناک فعالیت کنند (Górka *et al.*, 2011). اگرچه مالتودکسترین باعث حفظ درصد عصاره اتری، خاکستر و آنزیم‌های تجزیه‌کننده پلی‌ساکاریدها شده است ولی با فرآیند اتوکلاو کردن نیز فعالیت آنزیم‌ها صفر نشد، انتظار می‌رود که با اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ دقیقه فعالیت آنزیم‌ها به خاطر ماهیت پروتئینی آن‌ها به صفر برسد، ولی تیمارهای اتوکلاو شده، بدون افزودن مالتودکسترین باعث حفظ درصد ۷۴ فعالیت آنزیم و با افزودن ۱ درصد مالتودکسترین باعث حفظ ۵۰ درصد فعالیت آنزیم‌ها نسبت به اتوکلاو نشده‌ها شد. در گزارش‌هایی جیره حاوی آنزیم‌های فیبرولیتیک اگزوزنوس استفاده از مواد مغذی و خوراک را بهبود داد و دفع مواد مغذی به محیط را کاهش داد. دفع بیش از اندازه مواد مغذی به علت قابلیت هضم ناکافی و افزایش انتشار متان مهم‌ترین محدودیت در دستیابی به حداکثر تولید در نشخوارکنندگان است. کاربرد مایع شکمبه به عنوان منبع آنزیمی برای خوراک نشخوارکنندگان یک روش دوستدار محیط زیست است که از این طریق مایع شکمبه کشتارگاه‌ها مدیریت می‌شود. بنابراین، می‌تواند به‌عنوان یک منبع آنزیمی ارزان و جدید برای صنعت خوراک دام مطرح شود (Salem *et al.*, 2013; Salem *et al.*, 2015).

جدول ۳- فعالیت آنزیم‌های (U/ml) اصلی تجزیه کننده پلی ساکاریدهای مایع شکمبه فرآوری شده به صورت درصدی از مایع شکمبه تازه  
Table 3. The activity of the main enzymes (1 U/ml) that degradable polysaccharides of the processed rumen fluid as a percentage of fresh rumen fluid

P-Value سطح احتمال معنی داری	SEM	Treatment <sup>۲</sup>					Parameters (%) پارامترها (درصد)
		SAMFRF	SMFRF	SAFRF	SFRF	AFRF	
<0.01	0.06	41.52 <sup>c</sup>	83.44 <sup>a</sup>	40.19 <sup>c</sup>	55.64 <sup>b</sup>	58.49 <sup>b</sup>	Carboxymethylcellulase کربوکسی متیل سلولاز
<0.01	0.12	33.32 <sup>d</sup>	81.30 <sup>a</sup>	28.53 <sup>c</sup>	44.43 <sup>c</sup>	54.19 <sup>b</sup>	Microcrystalline cellulose میکرو کریستالین سلولاز
<0.01	0.09	32.66 <sup>c</sup>	88.34 <sup>a</sup>	26.98 <sup>d</sup>	32.83 <sup>c</sup>	43.00 <sup>b</sup>	$\alpha$ -amylase الفا آمیلاز
<0.01	0.08	79.24 <sup>c</sup>	98.62 <sup>a</sup>	70.33 <sup>c</sup>	86.53 <sup>b</sup>	80.93 <sup>b</sup>	Enzymatic activity of filter paper فعالیت آنزیمی کاغذ صافی

<sup>۱</sup>برابراست با ۱ میکرومول گلوکز آزاد شده در دقیقه  
<sup>۲</sup>آزمایشی شامل SFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی، SAFRR: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی، SMFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد و SAMFRF: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد.  
در هر ردیف حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است ( $p < 0.01$ ).

<sup>۱</sup>is equal to 1 micromol of glucose released per minute

<sup>۲</sup>The treatments include AFRF: Autoclaved Fresh Rumen Fluid, SFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method, SAFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method, SMFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method with 1% Maltodextrin and SAMFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying with 1% Maltodextrin

In each row, dissimilar letters indicate a significant difference ( $P < 0.01$ ).

خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود. با انجام فرآیند اتوکلاو کردن غلظت این عناصر به صفر نرسید و در تیمارهایی که اتوکلاو انجام شد، هنوز غلظت این عناصر حفظ شد. تاکنون مطالعه‌ای در مورد غلظت عنصر معدنی پرنیاز و کم نیاز در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی گزارش نشده است. در گزارشی مقادیر عناصر سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فسفر به ترتیب در مواد هضمی شکمبه گوسفند ۱۹/۹۸، ۴/۷۳، ۰/۴۲، ۰/۴۵ و ۴/۷۳ درصد گزارش شده است (Sakaba et al., 2017). غلظت سدیم (۰/۱۲)، پتاسیم (۲)، منیزیم (۳/۲)، روی (۶/۵)، منگنز (۲/۴)، کلسیم (۷)، آهن (۷/۸)، مس (۳/۵) و فسفر (۸/۷) در مواد هضمی گاو گزارش شد (Agbabiaka et al., 2012). همچنین غلظت این عناصر در مواد هضمی بز به ترتیب ۰/۱۴، ۲، ۳/۳، ۷/۲، ۲/۵، ۹/۲، ۷/۴، ۶/۹ و ۹/۵ گزارش شد و در مواردی که این مواد هضمی از نظر عناصر معدنی کمبود دارد باید مکمل مواد معدنی در جیره استفاده شود (Agbabiaka et al., 2012).

### غلظت عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز

غلظت عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز مایع شکمبه فرآوری شده در جدول ۵ گزارش شده است. همانطور که ملاحظه می‌گردد غلظت برخی از عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز مورد آزمایش به طور معنی داری تحت تأثیر فرآیند اتوکلاو کردن و خشک کردن با روش خشک کردن پاششی قرار گرفت. غلظت عناصر کلسیم، منیزیم، نقره، بور، باریم، بریلیوم، کبالت، کروم، منگنز، سرب، استرانسیم، روی در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود ( $P < 0.01$ ). غلظت عنصر فسفر با روش خشک کردن پاششی به همراه ۱ درصد مالتودکسترین بیشترین بود ( $p < 0.01$ ). غلظت عنصر لیتیم در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده به همراه مالتودکسترین ۱ درصد بیشترین است ( $p < 0.01$ ). غلظت عناصر آهن، مس، آلومینیوم و سیلیسیم در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود ( $p < 0.01$ ). غلظت اکثر عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز در مایع شکمبه



جدول ۴- غلظت عناصر معدنی پرنیاز و کم نیاز مایع شکمبه فرآوری شده

Table 4. Concentrations of Macro and Micro minerals of processed rumen fluid

P-Value	SEM	تیمارها <sup>۱</sup>						متغیرها
		SAMFRF	SMFRF	SAFRF	SFRF	AFRF	FRF	
مواد معدنی پر نیاز (گرم در کیلوگرم ماده خشک)								
<0.01	0.000	3.619 <sup>d</sup>	4.815 <sup>b</sup>	4.711 <sup>c</sup>	5.596 <sup>a</sup>	0.134 <sup>i</sup>	0.205 <sup>e</sup>	Calcium کلسیم
<0.01	0.000	2.000 <sup>d</sup>	2.530 <sup>b</sup>	2.451 <sup>c</sup>	2.796 <sup>a</sup>	0.120 <sup>e</sup>	0.103 <sup>f</sup>	Magnesium منیزیم
<0.01	0.000	7.084 <sup>b</sup>	9.583 <sup>a</sup>	0.810 <sup>e</sup>	0.137 <sup>f</sup>	0.446 <sup>e</sup>	0.452 <sup>d</sup>	Phosphorus فسفر
مواد معدنی کم نیاز (ppm)								
<0.01	1.832	0.099 <sup>d</sup>	0.138 <sup>c</sup>	0.191 <sup>b</sup>	0.246 <sup>a</sup>	0.017 <sup>i</sup>	0.025 <sup>e</sup>	Silver نقره
<0.01	0.000	471.239 <sup>d</sup>	515.707 <sup>c</sup>	743.503 <sup>a</sup>	537.024 <sup>b</sup>	2.015 <sup>e</sup>	1.724 <sup>f</sup>	Aluminium آلومینوم
<0.01	3.854	1.090 <sup>d</sup>	16.538 <sup>c</sup>	19.028 <sup>b</sup>	193.710 <sup>a</sup>	1.087 <sup>e</sup>	0.932 <sup>f</sup>	Boron بور
<0.01	2.870	10.924 <sup>d</sup>	14.221 <sup>c</sup>	164.53 <sup>b</sup>	176.560 <sup>a</sup>	0.565 <sup>e</sup>	0.421 <sup>f</sup>	Barium باریم
<0.01	0.187	0.039 <sup>d</sup>	0.045 <sup>c</sup>	0.060 <sup>b</sup>	0.106 <sup>a</sup>	0.005 <sup>e</sup>	0.005 <sup>e</sup>	Beryllium بریلیوم
<0.01	0.254	0.198 <sup>d</sup>	0.223 <sup>c</sup>	0.308 <sup>b</sup>	0.336 <sup>a</sup>	0.013 <sup>f</sup>	0.014 <sup>e</sup>	Cobalt کوبالت
<0.01	2.369	1.574 <sup>d</sup>	1.892 <sup>c</sup>	2.863 <sup>b</sup>	4.192 <sup>a</sup>	0.063 <sup>f</sup>	0.079 <sup>e</sup>	Chromium کروم
<0.01	0.000	5.053 <sup>d</sup>	5.397 <sup>c</sup>	88.888 <sup>a</sup>	6.910 <sup>b</sup>	0.174 <sup>f</sup>	0.151 <sup>e</sup>	Copper مس
<0.01	8.472	251.414 <sup>d</sup>	325.913 <sup>c</sup>	403.411 <sup>a</sup>	342.125 <sup>b</sup>	1.117 <sup>f</sup>	2.435 <sup>e</sup>	Ferrum آهن
<0.01	6.185	8.812 <sup>a</sup>	7.037 <sup>c</sup>	5.764 <sup>d</sup>	7.793 <sup>b</sup>	0.058 <sup>f</sup>	0.097 <sup>e</sup>	lithium لیتیوم
<0.01	3.547	23.521 <sup>d</sup>	34.578 <sup>b</sup>	32.979 <sup>c</sup>	41.609 <sup>a</sup>	0.355 <sup>i</sup>	0.579 <sup>e</sup>	Manganese منگنز
<0.01	4.061	0.249 <sup>c</sup>	0.358 <sup>b</sup>	0.348 <sup>b</sup>	0.696 <sup>a</sup>	0.002 <sup>d</sup>	0.006 <sup>d</sup>	Molybdenum مولیبدن
<0.01	1.91	2.094 <sup>d</sup>	2.526 <sup>c</sup>	3.636 <sup>b</sup>	4.513 <sup>a</sup>	0.081 <sup>i</sup>	0.186 <sup>e</sup>	Nickel نیکل
<0.01	0.321	0.766 <sup>d</sup>	0.858 <sup>c</sup>	1.266 <sup>b</sup>	1.874 <sup>a</sup>	0.084 <sup>i</sup>	0.092 <sup>e</sup>	Lead سرب
<0.01	0.000	2156.953 <sup>b</sup>	2071.486 <sup>c</sup>	2992.810 <sup>a</sup>	2002.216 <sup>d</sup>	64.510 <sup>e</sup>	36.027 <sup>i</sup>	Silicium سیلیسیم
<0.01	3.290	69.004 <sup>d</sup>	88.887 <sup>c</sup>	895.510 <sup>b</sup>	1110.616 <sup>a</sup>	1.820 <sup>i</sup>	3.463 <sup>e</sup>	Strontium استرانسیم
<0.01	1.563	31.602 <sup>d</sup>	42.713 <sup>c</sup>	51.713 <sup>b</sup>	734.91 <sup>a</sup>	0.887 <sup>f</sup>	1.121 <sup>e</sup>	Zinc روی

تیمارهای آزمایشی شامل FRF: مایع شکمبه تازه، SAFRF: مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده، SFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی، SAFRF: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی، SMFRF: مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد و SAMFRF: مایع شکمبه تازه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی به همراه مالتودکسترین ۱ درصد.

در هر ردیف حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار است (P<0.01).  
<sup>1</sup>The treatments include FRF: Fresh Rumen Fluid, AFRF: Autoclaved Fresh Rumen Fluid, SFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method, SAFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method, SMFRF: Fresh rumen Fluid Dried by Spray Drying Method with 1% Maltodextrin and SAMFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying with 1% Maltodextrin. In each row, dissimilar letters indicate a significant difference (P<0.01).

## نتیجه گیری کلی

با توجه به اینکه میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا با اتوکلاو کردن از بین رفتند و حدود ۵۰ درصد فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پلی ساکاریدها حفظ شد. بنابراین اتوکلاو کردن برای از بین بردن میکروارگانسیم‌های بیماری‌زا مایع شکمبه قابل توصیه است.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور Iran National Science Foundation: INSF، طرح با کد ۹۸۰۱۸۷۰۴، دانشگاه شهرکرد) بابت اجرایی شدن این طرح کمال تشکر را دارند.

## منابع

- Abdeshahian, P., Lim, J. S., Ho, W. S., Hashim, H., & Lee, C. T. (2016). Potential of biogas production from farm animal waste in Malaysia. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 714-723.
- Abouhief, M. A., Kraidees, M. S., & Al-Selbood, B. A. (1999). The utilization of rumen content-barley meal in diets of growing lambs. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 12(8), 1234-1240.
- Agarwal, N., I. Agarwal D.N. Kamra and L.C. Chaudhary. (2000). Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. *Journal of Applied Animal Research*, 18(1), 73-80.
- Agbabiaka, L.A., F.N. Madubuike and S.A. Amadi. (2012). Studies on nutrients and anti-nutrients of rumen digesta from three most domesticated ruminants in Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(7), 580



- Aghbashlo, M., Mobli, H., Rafiee, S., & Madadlou, A. (2012). Energy and exergy analyses of the spray drying process of fish oil microencapsulation. *Biosystems Engineering*, 111(2), 229-241.
- Alloue, W. A. M., Destain, J., Amighi, K., & Thonart, P. (2007). Storage of *Yarrowia lipolytica* lipase after spray-drying in the presence of additives. *Process Biochemistry*, 42(9), 1357-1361.
- Andries, J. I., Buysse, F. X., De Brabander, D. L., & Cottyn, B. G. (1987). Isoacids in ruminant nutrition: Their role in ruminal and intermediary metabolism and possible influences on performances—A review. *Animal Feed Science and Technology*, 18(3), 169-180.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis, Association of Official Analytical Chemists (16<sup>nd</sup> Edition). Arlington, VA, USA.
- Bajsic, I., & Kranjcevic, E. (2001). Automation of industrial spray dryer. *Instrumentation Science & Technology*, 29(1), 41-52.
- De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International dairy journal*, 20(4), 292-302.
- Fanoodi, M., Hosseini Vashan, S.J., Mojtahedi M. and Raji. F. (2022). Effect of dried surplus white mulberries and multi - enzyme on growth performance, blood biochemical indices and intestinal morphology of broiler chickens. *Research on Animal Production*, 12(34),40-51. (In persian)
- Fathi, M., Martín, A., & McClements, D. J. (2014). Nanoencapsulation of food ingredients using carbohydrate based delivery systems. *Trends in food science & technology*, 39(1), 18-39.
- Gebrehawariat, E., Animut, G., Urge, M., & Mekasha, Y. (2016). Sun-dried bovine rumen content (SDRC) as an ingredient of a ration for White Leghorn Layers. *East African Journal of Sciences*, 10(1), 29-40.
- Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., & Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food research international*, 40(9), 1107-1121.
- Górka, P., Kowalski, Z. M., Pietrzak, P., Kotunia, A., Jagusiak, W., & Zabielski, R. (2011). Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development?. *Journal of dairy science*, 94(6), 3002-3013.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, 15(7-8), 330-347.
- Lauruengtana, V., Paramita, V., Neoh, T. L., Furuta V. and Yoshii. H. (2009). Encapsulation of enzymes by spray drying. *Japan Journal of Food Engineering*, 10(2),79-85.
- Mondal, S., Haldar, S., Samanta, I., Samanta, G., & Ghosh, T. K. (2013). Exploring nutritive potential of undigested rumen contents as an ingredient in feeding of goats. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 13(1), 79-88.
- Muscato, T. V., Tedeschi, L. O., & Russell, J. B. (2002). The effect of ruminal fluid preparations on the growth and health of newborn, milk-fed dairy calves. *Journal of dairy science*, 85(3), 648-656.
- Namaldi, A., Calik, P., & Uludag, Y. (2006). Effects of spray drying temperature and additives on the stability of serine alkaline protease powders. *Drying Technology*, 24(11), 1495-1500.
- Ottenstein, D. M., & Bartley, D. A. (1971). Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*, 43(7), 952-955.
- Rezai Sarteshnizi, F., Abdi-Benemar, H., Seifdavati, J., Khalilvandi-Behroozyar, H., Seyedsharifi, R., & Salem, A. Z. M. (2020). Influence of spray-dried rumen fluid supplementation on performance, blood metabolites and cytokines in suckling Holstein calves. *animal*, 14(9), 1849-1856.
- Rezai Sarteshnizi, F., Benemar, H. A., Seifdavati, J., Greiner, R., Salem, A. Z., & Behroozyar, H. K. (2018). Production of an environmentally friendly enzymatic feed additive for agriculture animals by spray drying abattoir's rumen fluid in the presence of different hydrocolloids. *Journal of cleaner production*, 197, 870-874.
- Rios Rincon, F. G., Bermudez-Hurtado, R. M., Estrada-Angulo, A., Juarez-Reyes, A. S., & Pujol-Manriquez, C. (2010). Dried Ruminant Contents as a substitute for Alfalfa hay in growing-finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(10), 1526-1530.
- Said, I. F., Elkhair, R. M. A., Shawky, S. M., Abdelrahman, H. A., Elfeki. M. A. (2015). Impact of feeding dried rumen content and olive pulp with or without enzymes on growth performance, carcass characteristics and some blood parameters of molar ducks. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 4, 2319-2473.
- Sakaba, A. M., Hassan, A. U., Harande, I. S., Isgogo, M. S., Maiyama, F. A., & Danbare, B. M. (2017). Proximate composition of rumen digesta from sheep slaughtered in Zuru Abattoir, Kebbi State, Nigeria. *Journal of Agricultural Science and Practice*, 2(5), 86-89.
- Salem, A. Z. M., Alersy, H., Camacho, L. M., El-Adawy, M. M., Elghandour, M. M. Y., Kholif, A. E., ... & Zaragoza, A. (2015). Feed intake, nutrient digestibility, nitrogen utilization, and ruminal fermentation activities in sheep fed Atriplex halimus ensiled with three developed enzyme cocktails.
- Salem, A. Z. M., Gado, H. M., Colombatto, D., & Elghandour, M. M. Y. (2013). Effects of exogenous enzymes on nutrient digestibility, ruminal fermentation and growth performance in beef steers. *Livestock Science*, 154(1-3), 69-73.
- Schüle, S., Schulz-Fademrecht, T., Garidel, P., Bechtold-Peters, K., & Frieß, W. (2008). Stabilization of IgG1 in spray-dried powders for inhalation. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics*, 69(3), 793-807.
- Seankamsorn, A., Cherdthong, A., Wanapat, M., Supapong, C., Khonkhaeng, B., Uriyapongson, S., ... & Chanjula, P. (2017). Effect of dried rumen digesta pellet levels on feed use, rumen ecology, and blood metabolite in swamp buffalo. *Tropical animal health and production*, 49, 79-86.
- Shahravand, F. and Ghorchi. T. (2020). Study of Cellulase Enzymes Activity in Rumen Fluid of Fattening Slaughtered Goat Kids. *Research on Animal Production*, 11(27), 9-17. (In Persian).
- Tan, L. H., Chan, L. W., & Heng, P. W. S. (2005). Effect of oil loading on microspheres produced by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 22(3), 253-259.
- Tritt, W.P. and Schuchardt, F. (1992). Materials flow and possibilities of treating liquid and solid wastes from slaughterhouses in Germany. A review. *Bioresource Technology*, 41, 235-245.
- Yue, Z. B., Li, W. W., & Yu, H. Q. (2013). Application of rumen microorganisms for anaerobic bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 128, 738-744.