



تاثیر روش‌های عمل‌آوری شیمیایی و زیستی بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی بقایای نخود زراعی

کبری سلطانی ناصری^۱، فرزاد قنبری^۲، جواد بیات کوهسار^۳ و فاختک طلعی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، (نویسنده مسوول: farzadghanbari@yahoo.com)
۳- استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس
۴- تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۶

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر عمل‌آوری شیمیایی و زیستی بر ترکیب شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تنی بقایای نخود زراعی در قالب طرح کاملاً تصادفی (۷ تیمار و ۳ تکرار) انجام شد. تیمارها شامل بقایای نخود زراعی عمل‌آوری نشده (شاهد) و عمل‌آوری شده با آب (۲/۵ لیتر در کیلوگرم ماده خشک)، هیدروکسید سدیم (۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، پراکسید هیدروژن (۱۱۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)، قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *تریکودرما هارزیانوم* و *صدفی* (۱۰۵ × ۵ اسپور بر میلی‌لیتر) بودند. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها مطابق روش‌های استاندارد تعیین شد. به منظور برآورد فراسنجه‌های تولید گاز نمونه‌ها، از آزمون تولید گاز استفاده شد. قابلیت هضم برون‌تنی نمونه‌ها با استفاده از روش کشت بسته انجام شد. عمل‌آوری بر ترکیب شیمیایی تیمارها موثر بود ($p < 0.003$). به جز آب، سایر تیمارها باعث افزایش خاکستر و کاهش ماده آلی شدند. مقدار پروتئین خام توسط تیمارهای مختلف افزایش یافت. بیشترین مقدار در تیمار *تریکودرما* مشاهده شد (۴/۷۶ درصد ماده خشک). هیدروکسید سدیم باعث کاهش الیاف نامحلول در شوینده خشی نسبت به شاهد شد (۵۴/۰۰ درصد در ۵۶/۶۶ درصد). عمل‌آوری پتانسیل تولید گاز و نرخ تولید گاز را کاهش داد. کمترین مقدار این صفات در تیمار *تریکودرما* به دست آمد (به ترتیب ۱۶۲/۹ میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک و ۰/۰۵۲ میلی‌لیتر در ساعت). تیمارهای هیدروکسید سدیم و قارچ *آسپرژیلوس* مقدار قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را افزایش ($p < 0.001$) دادند (به ترتیب ۵۸ و ۶۲ درصد برای قابلیت هضم ماده خشک، ۵۷ و ۶۲ درصد برای قابلیت هضم ماده آلی). تمام تیمارها باعث افزایش توده میکروبی تولید شده و بازده آن شدند ($p < 0.0003$). بیشترین افزایش در تیمار *آسپرژیلوس* مشاهده شد (به ترتیب ۱۶۰/۲۸ میلی‌گرم بر گرم ماده خشک و ۰/۴۸). بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، تیمارهای هیدروکسید سدیم و قارچ *آسپرژیلوس* در بهبود ارزش تغذیه‌ای بقایای نخود فرنگی در شرایط آزمایشگاهی موثر بودند.

واژه‌های کلیدی: *آسپرژیلوس نایجر*، ارزش تغذیه‌ای، بقایای نخود زراعی، *تریکودرما هارزیانوم*، پراکسید هیدروژن، هیدروکسید سدیم، قارچ صدفی

مقدمه

بعد از برداشت محصولات زراعی، مقدار قابل توجهی از بقایای آن‌ها در مزرعه باقی می‌ماند که بخش بزرگی از این بقایا می‌تواند به‌عنوان منبع مهم کربوهیدرات و انرژی در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده شود. با این حال، استفاده از این محصولات در جیره به دلیل ساختار بیولوژیکی پیچیده و محتوای کم پروتئین محدود است (۴۷). ارزش تغذیه‌ای بقایای زراعی را می‌توان با به‌کارگیری روش‌های مختلف عمل‌آوری بهبود داد. از عمل‌آوری‌های فیزیکی (خرد کردن، پلت کردن، آسیاب کردن، خیساندن، بخار آب تحت فشار و پرتوتابی)، شیمیایی (استفاده از هیدروکسید سدیم، اوره، آمونیاک، اکسید کلسیم و پراکسید هیدروژن)، بیولوژیکی (استفاده از قارچ‌ها، عوامل میکروبی و آنزیم‌های تجاری) و یا ترکیب آن‌ها به‌منظور بهبود ارزش تغذیه‌ای بقایای محصولات زراعی استفاده شده است (۳۹).

در یک پژوهش، استفاده از تیمارهای هیدروکسید سدیم و آمونیاک در عمل‌آوری برخی بقایای لیگنوسلولزی، سبب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده شدند (۴۸). بابایی و همکاران (۶) در بررسی اثر پراکسید هیدروژن بر ارزش تغذیه‌ای بقایای ماش مشاهده کردند که

عمل‌آوری سبب افزایش خاکستر، کاهش ماده آلی، افزایش پروتئین خام و کاهش الیاف خام شدند. در یک آزمایش، هیدروکسید سدیم باعث بهبود پتانسیل تولید گاز، فراسنجه‌های تخمیری و گوارش پذیری بقایای سویا شد (۴). استفاده از تیمارهای شیمیایی برای افزایش ارزش تغذیه‌ای محصولات فرعی به دلیل هزینه‌های بالا و اثر مخرب روی محیط زیست باید با رعایت اصول فنی انجام شوند. اخیراً تجزیه بیولوژیکی مواد لیگنوسلولزی به‌عنوان یک روش جایگزین در نظر گرفته شده است. در عمل‌آوری بیولوژیکی معمولاً از قارچ‌ها برای هیدرولیز آنزیمی و بهبود ارزش تغذیه‌ای محصولات فرعی زراعی استفاده می‌شود (۵). در طیور نیز عمل‌آوری خوراک پرکاربرد است، گودرزی و همکاران (۲۰) مشاهده کردند که عمل‌آوری خوراک و آنزیم فیتاز سبب افزایش عملکرد و قابلیت هضم فسفر در جوجه‌های گوشتی شدند.

قارچ *تریکودرما* با رشد سریع و اثر روی دیواره سلولی خوراک مورد نظر سبب تجزیه دیواره و افزایش هضم می‌شود (۴۷). آزمایشی برای بالا بردن ارزش غذایی مواد لیگنوسلولزی به‌وسیله دو قارچ صدفی *پلوروتوس پولموناریس* و *پلوروتوس ساجورکاجو* انجام شد. نتایج حاکی از افزایش مقدار پروتئین خام، و کاهش الیاف خام، دیواره سلولی فاقد

پس از کشت ده روزه، قارچ‌های *تریکوڈرما* و *آسپرژیلوس* با استفاده از آب مقطر استریل شدند. سپس ۱۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپوری با غلظت 5×10^5 تهیه شده و برای مایه‌زنی هر کیسه حاوی ۳۰۰ گرم از بقایای خرد شده نخود زراعی، مورد استفاده قرار گرفت. کیسه‌های حاوی نمونه‌های تلقیح شده پس از ۲۱ روز باز شده و در معرض هوا خشک شدند. سپس نمونه‌گیری از آن‌ها انجام شد. در عمل‌آوری توسط قارچ *صدفی*، ابتدا بقایای خشک گیاه به قطعات ۱۰-۵ سانتی‌متری خرد شده و مقدار ۳۰۰ گرم برداشته و با افزودن آب، رطوبت آن به حدود ۸۵ درصد رسانده شد. نمونه بقایا در کیسه‌های پلاستیکی ریخته شده و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به مدت ۱ ساعت استریل شد. پس از سرد شدن کامل محتویات کیسه‌ها، میزان ۹ گرم (۳ درصد) از اسپان^۴ تهیه شده قبلی به هر کیسه اضافه شد و نمونه‌ها به‌منظور رشد *میسلیوم*، به مدت ۲۱ روز در اطاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس کیسه‌ها باز شده و در معرض هوا کاملاً خشک شدند (۴۵).

تعیین ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی نمونه‌ها مطابق روش استاندارد AOAC (۳) تعیین شد. ماده خشک به‌وسیله قرار دادن نمونه‌ها در آن با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. خاکستر با استفاده از کوره الکتریکی برآورد شد. مقدار چربی خام با استفاده از دستگاه سوکسله اندازه‌گیری شد. مقدار پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اتوکلدال تعیین شد (نیترژن $6/25 \times$). اندازه‌گیری لیاف نامحلول در شوینده خنثی و لیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش ون سوست (۴۷) انجام شد. مقادیر کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد به‌ترتیب با استفاده از معادلات مربوط برآورد شدند (۳۴).

(رابطه ۱)

$$^a\text{TDN} = 81/38 + (\text{CP} \times 0/36) - (\text{ADF} \times 0/77)$$

(رابطه ۲)

$$^b\text{NEL} = (0/245 \times \text{TDN}) - 0/12$$

(رابطه ۳)

$$^c\text{NEg} = (0/29 \times \text{TDN}) - 1/01$$

آزمون تولید گاز

تولید گاز تیمارهای آزمایشی بر اساس روش استاندارد اندازه‌گیری شد (۳۳). مایع شکمبه از ۳ راس گوسفند نر نژاد دالاق ($2/5 \pm 45$ کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای قبل از خوراک‌دهی صبح جمع‌آوری شد. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۷۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت به نسبت مساوی) و ۳۰ درصد کنسانتره (جو، کنجاله تخم پنبه، سیوس و مکمل) تغذیه شدند و به آب آزادانه دسترسی داشتند. مایع شکمبه بلافاصله به آزمایشگاه انتقال یافت. بزاق مصنوعی و مایع شکمبه تهیه شده به نسبت ۲ به ۱ (۲ حجم بزاق مصنوعی و ۱ حجم مایع شکمبه) به‌داخل بالن مخصوص ریخته شدند. سپس گاز دی‌اکسید کربن به‌داخل مخلوط تزریق شده و در آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت ۳۰ میلی‌لیتر از این محلول به‌داخل

همی‌سلولز، همی سلولز و لیگنین در نتیجه استفاده از تیمارهای قارچی بود (۲۶). در یک پژوهش دیگر فعالیت قارچ‌های *صدفی* و رنگین کمان (*پلوروتوس/استراتوس* و *ترامتس وریسکارا*) روی گاه گندم مورد مقایسه قرار گرفت. مشاهده شد که میزان دیواره سلولی، دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز و لیگنین به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین در هر دو تیمار قارچی مقدار پروتئین خام و انرژی قابل متابولیسم افزایش یافت (۴۳).

هدف از انجام این آزمایش بررسی تاثیر تیمارهای آب، هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن، قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر*^۳ و *تریکوڈرما هارزیانوم*^۲ و نیز قارچ *صدفی* بر ترکیب شیمیایی، فراسطح‌های تولید گاز و قابلیت هضم برون‌تی بقایای نخود زراعی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه و عمل‌آوری بقایای نخود زراعی

بقایای نخود زراعی از مزرعه اطراف شهرستان مینودشت با سطح زیر کشت ۱/۵ هکتار حدوداً ۲۰-۲۵ کیلوگرم جمع‌آوری و برای عمل‌آوری آماده سازی شدند. تیمارها شامل بقایای نخود زراعی عمل‌آوری نشده (شاهد) و عمل‌آوری شده با آب (۲/۵ لیتر در کیلوگرم ماده خشک)، هیدروکسید سدیم (۵۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک)، پراکسید هیدروژن (۱۱۴ میلی‌لیتر در کیلوگرم ماده خشک)، و قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر*، *تریکوڈرما هارزیانوم* و *صدفی* (5×10^5) اسپور بر میلی‌لیتر بودند. به‌منظور عمل‌آوری با هیدروکسید سدیم، ۵۰ گرم از این ماده در یک لیتر آب مقطر حل شده و روی یک کیلوگرم ماده خشک بقایای نخود زراعی اسپری شد. این مخلوط به‌خوبی هم زده شد. سپس درون کیسه‌های پلاستیکی ۲ لایه ریخته شده و به‌خوبی فشرده گردید. کیسه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوای نگهداری شدند (۱۵). در عمل‌آوری با آب، مقدار ۲ کیلوگرم از بقایا با ۵ لیتر آب مخلوط گردید. سپس بقایا درون کیسه‌های پلاستیکی و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط بی‌هوای نگهداری شدند (۱۹). برای عمل‌آوری با پراکسید هیدروژن، ابتدا نمونه‌های بقایای نخود زراعی با هیدروکسید سدیم پیش تیمار شدند. بدین صورت که ۱۰۰ گرم هیدروکسید سدیم در ۰/۵ لیتر آب حل شد. سپس این محلول به ۴ لیتر آب افزوده و روی ۲ کیلوگرم از بقایا اضافه شد. نیم ساعت بعد، ۱۱۴ میلی‌لیتر آب اکسیژنه با درجه خلوص ۳۵ درصد در نیم لیتر آب حل شده و به این مخلوط اضافه شد. این مخلوط به‌خوبی هم زده شد. بقایا درون کیسه‌های پلاستیکی و به مدت ۱۸ روز در شرایط بی‌هوای نگهداری شدند (۱۱). پس از طی مدت زمان عمل‌آوری، کیسه‌های حاوی نمونه‌های مختلف باز شده و در معرض هوا خشک شدند. در عمل‌آوری بیولوژیکی، جدایه‌های قارچ *آسپرژیلوس نایجر*، *تریکوڈرما هارزیانوم* و نیز قارچ *صدفی* مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های قارچ در شرایط استریل بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت *سبب‌زمینی-دکستروز-آگار* تکثیر شدند. کشت‌های تهیه شده به مدت ده روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

1- *Aspergillus Niger*

2- *Trichoderma harzianum*

3- *Pleurotus ostreatus*

۴- اسپان یا اسپاون به اندام رویشی قارچ یا *میسلیوم*ها به همراه مواد غذایی زمین‌های همراه آن گفته می‌شود (بذر اولیه تولید قارچ)

5- Total Digestible Nutrients (TDN)

6- Natural Energy lactation (NEL)

7- Natural Energy growth (NE_g)

از فاز مایع جدا شدند. سپس pH فاز مایع نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. پس از صاف کردن محتویات کشت ۲۴ ساعته، نمونه‌های حاصل به مدت ۴۸ ساعت در آن ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس قابلیت هضم ظاهری نمونه‌ها محاسبه شد.

فراسنجه‌های تخمیری شکمبه با روش برون‌تنی

میزان نیتروژن آمونیاکی نمونه‌ها با استفاده از روش فنل-هیپوکلیت تعیین گردید (۱۲). بدین منظور از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر جهت قرائت جذب نوری استفاده شد. محاسبه توده میکروبی تولید شده با استفاده از رابطه ۸ انجام شد (۲۸).

(رابطه ۸)

$$MB = GP \times (PF - 2/2) \quad \text{MB (میلی‌گرم)}$$

در این رابطه، MB تولید توده میکروبی، GP میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر) و PF عامل تفکیک (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) هستند. عامل تفکیک برابر با نسبت میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده بر میلی‌لیتر حجم گاز خالص تولیدی می‌باشد. بازده مقدار توده میکروبی با تقسیم توده میکروبی تولید شده بر مقدار ماده آلی حقیقی قابل تخمیر در پایان زمان انکوباسیون (۲۴ ساعت) محاسبه گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. مدل آماری طرح به صورت رابطه ۹ بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{(رابطه ۹)}$$

در این رابطه، Y_{ij} : مقدار هر مشاهده، μ : میانگین کل، T_i : اثر تیمار و e_{ij} : خطای آزمایش هستند. پردازش داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۴۰) و رویه ANOVA انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار^۱ استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی

تاثیر تیمارهای آب، هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن، قارچ *تریکودرما*، قارچ *آسپرژیلوس* و قارچ صدفی بر ترکیب شیمیایی بقایای نخود زراعی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($p < 0.03$). مقدار ماده خشک بقایای نخود زراعی عمل‌آوری نشده (شاهد) ۹۴/۹۳ درصد به دست آمد. تیمارهای آب، هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن باعث افزایش درصد ماده خشک شدند (به ترتیب ۹۶/۳۰، ۹۵/۷۰ و ۹۶/۶۶ درصد). در مقابل، قارچ‌های *تریکودرما* و *آسپرژیلوس* و نیز قارچ صدفی مقدار این صفت را کاهش دادند (به ترتیب ۹۳/۷۶، ۹۳/۷۳ و ۹۳/۸۶ درصد). مقدار خاکستر و ماده آلی در تیمار شاهد به ترتیب ۷/۸۹ و ۹۲/۱۱ درصد به دست آمد. تمام تیمارها باعث افزایش مقدار خاکستر و کاهش ماده آلی شدند. تیمار هیدروکسید سدیم دارای بیشترین مقدار خاکستر و کمترین مقدار ماده آلی بود (به ترتیب ۱۶/۶۷ و ۸۶/۳۳ درصد). همه عمل‌آوری‌ها سبب افزایش پروتئین خام شدند

ویال‌های شیشه‌ای حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه ریخته شد. سر این ویال‌های شیشه‌ای به کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته شد. ویال‌ها درون حمام آب گرم دارای دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در طی این مدت، ویال‌های شیشه‌ای در فواصل زمانی معین تکان داده می‌شدند. حجم گاز تولید شده در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از انکوباسیون، به‌صورت تجمعی محاسبه شد. برآورد فراسنجه‌های مختلف تولید گاز توسط نرم‌افزار *Fit curve* و بر اساس رابطه ۴ انجام شد (۳۶):

$$y = b(1 - e^{-ct}) \quad \text{(رابطه ۴)}$$

در این رابطه، y گاز تولید شده در زمان t ، b تولید گاز از بخش نامحلول قابل تخمیر، e عدد نپر، c ثابت نرخ تولید گاز برای بخش b و t زمان کشت هستند.

مقادیر انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی نمونه‌ها با استفاده از معادلات منک و استینگاس (۳۲) و نیز مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بر اساس رابطه گتاچو و همکاران (۱۸) به ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۵، ۶ و ۷ برآورد شدند.

(رابطه ۵)

$$ME = 2/20 + 0/136 GP + 0/057 CP + 0/029 CF \quad \text{(رابطه ۶)}$$

$$OMD = 14/88 + 0/889 GP + 0/45 CP + 0/0651 XA \quad \text{(رابطه ۷)}$$

$$SCFA = 0/0222 GP - 0/00425$$

در این روابط: ME: انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازاء ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد از ماده خشک)، CF: لیاف خام (درصد از ماده خشک)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی، SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول) و XA: میزان خاکستر (درصد از ماده خشک) می‌باشند.

برآورد قابلیت هضم برون‌تنی

اندازه‌گیری قابلیت هضم تیمارهای مختلف بر اساس روش کشت بسته انجام شد (۴۴). بدین منظور، ابتدا نمونه‌ها به اندازه یک میلی‌متر آسیاب و سپس خشک شدند. روش تهیه بزاق مصنوعی و جمع‌آوری مایع شکمبه مطابق آنچه در آزمون تولید گاز شرح داده شد، صورت گرفت. با این تفاوت که در آزمایش تعیین قابلیت هضم، داخل هر یک از ویال‌های شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه ریخته شده و ۵۰ میلی‌لیتر از مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به نسبت ۲ به ۱ به‌داخل هر ویال اضافه شد. سپس به مدت ۱۰ ثانیه به‌داخل هر ویال شیشه‌ای گاز دی‌اکسیدکربن وارد شده و درب آن به‌کمک درپوش لاستیکی و پوشش آلومینیومی به‌طور کامل بسته شد. سپس ویال‌ها درون حمام آب گرم در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تمامی ویال‌ها از حمام آب گرم خارج شده و به‌ظرف حاوی یخ منتقل شدند. نمونه‌های موجود در هر ویال، با استفاده از پارچه مخصوص صاف شده و محتویات هضم نشده

عمل‌آوری با آهک افزایش یافت، شاید بتوان تاثیر قابل ملاحظه سود نسبت به آهک در سست کردن پیوندهای لیگنوسلولزی را اشاره کرد که در نتیجه آن با شکستن مکانیکی دیواره سلولی، استخراج پروتئین‌ها تسهیل می‌شود و مقدار پروتئین در تیمار عمل‌آوری با هیدروکسید سدیم نسبت به آهک و تیمار عمل‌آوری نشده افزایش یافته است. مهرابی (۳۱) تاثیر قارچ پوسیدگی سفید رنگین‌کمان^۲ را بر ترکیب شیمیایی کاه‌های گندم، جو، زیره و کلزا بررسی کرد. پس از عمل‌آوری ۲۱ روزه، نتایج نشان داد که قارچ مقدار پروتئین خام را در کاه گندم، جو و کلزا افزایش و در کاه زیره کاهش داد. در مقابل، دیواره سلولی پس از عمل‌آوری در کاه زیره افزایش و در سایر کاه‌ها کاهش یافت. در پژوهش حاضر نیز مقدار پروتئین خام در تیمارهای عمل‌آوری شده با قارچ نسبت به شاهد روند افزایشی داشت. افزایش غلظت پروتئین خام ممکن است به دلیل میزان بالای پروتئین در میسلیم قارچ و در نتیجه گسترش میسلیم و تولید پروتئین سلولی روی بستر کشت باشد (۴۱). افزایش میزان الیاف نیز می‌تواند به این علت باشد که ابتدا اجزایی از کاه که به سرعت حل می‌شوند، برای استفاده در تولید توده زیستی مورد متابولیسم قرار می‌گیرند (۴۹). همچنین دلیل تناقض در مقدار الیاف می‌تواند به خاطر تفاوت در ترکیب شیمیایی، نوع قارچ مورد استفاده و نوع آنزیم‌های خارج سلولی قارچ باشد (۴۱). افزایش غلظت خاکستر در تیمارهای قارچی می‌تواند به علت ساپروفیت بودن قارچ‌ها و تامین مواد غذایی مورد نیاز خود از ترکیبات موجود در بستر کشت باشد که در مراحل اولیه رشد از همی سلولز و سلولز استفاده می‌کنند و در نهایت سبب کاهش غلظت بخش مواد آلی در بستر کشت می‌گردند (۲۲). در مطالعه بایوتک و همکاران (۸) عمل‌آوری بقایای ماش با پراکسید هیدروژن باعث افزایش مقدار خاکستر، کاهش ماده آلی و کاهش دیواره سلولی شد. به نظر می‌رسد که افزایش در مقدار خاکستر در تیمار عمل‌آوری شده با پراکسید هیدروژن و هیدروکسید سدیم به دلیل رسوب این مواد شیمیایی روی بقایای ماش باشد. کاهش در مقدار ماده آلی نیز نتیجه رقیق شدن مواد قندی در نتیجه افزایش مقدار خاکستر می‌باشد.

($p < 0.001$). بیشترین مقدار این صفت در تیمار قارچ تریکودرما مشاهده شد (۴/۷۶ درصد). پراکسید هیدروژن باعث کاهش مقدار الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی در مقایسه با شاهد شد (به ترتیب ۵۶ و ۲۸/۶۶ درصد در برابر ۵۶/۶۶ و ۳۹/۳۳ درصد).

افزایش غلظت ماده خشک در پژوهش مورد نظر می‌تواند به دلیل از دست دادن رطوبت در انکوباتور باشد (۴۳). در یک پژوهش مقدار ماده خشک، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر لاین‌های مختلف نخود زراعی به ترتیب در محدوده ۶۳/۶۷-۹۰/۳۰-۸۹/۴۳ درصد، ۷/۴۲-۵/۶۱ درصد، ۵۱/۳۳-۵۶ درصد، ۸-۹ درصد به دست آمد (۲۵)، که تفاوت برخی از این داده‌ها با نتایج پژوهش حاضر ممکن است به دلیل عواملی از جمله گونه و زمان برداشت گیاه متفاوت با این پژوهش باشد (۳۷).

از آنجایی که در عمل‌آوری با پراکسید هیدروژن، ابتدا به منظور حفظ pH در محدوده ۱۱/۵ هیدروکسید سدیم به ماده اضافه می‌شود، به همین دلیل درصد خاکستر در نمونه عمل‌آوری شده افزایش می‌یابد (۱۹). در مطالعه بابایی و همکاران (۶) عمل‌آوری بقایای ماش با پراکسید هیدروژن سبب افزایش خاکستر شد که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

کاهش مقدار ماده خشک در طی فرآیند تخمیر با قارچ‌ها مورد تایید محققان مختلف قرار گرفته است. البته مقدار آن به نوع قارچ بستگی دارد (۲۷). در تحقیقی پس از عمل‌آوری تفاله چغندر قند با استفاده از قارچ *پلوروتوس فلوریلا*^۱، مقدار ماده خشک کاهش یافت (۲۷) که نتایج آن با تحقیق حاضر مشابه بود. اثر قارچ‌ها در کاهش ماده خشک می‌تواند به خاطر مصرف مواد مغذی موجود در نمونه‌ها برای رشد و متابولیسم قارچ‌ها باشد؛ زیرا در حین عمل‌آوری، اتم‌های کربن موجود در مواد آلی به مصرف قارچ‌ها رسیده و در نهایت گاز دی‌اکسید کربن آزاد می‌گردد. بدین ترتیب وزن اولیه نمونه‌ها کاهش پیدا می‌کند (۴۲). باستانی و همکاران (۷) مشاهده کردند محتوای پروتئین خام در نمونه عمل‌آوری شده با هیدروکسید سدیم در مقایسه با نمونه عمل‌آوری نشده و

جدول ۱- تأثیر عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی بقایای نخود زراعی

Table 1. Effect of chemical and biological processing on chemical composition of <i>cicer arietinum</i> waste									
NE _g	NE _L	TDN	ADF	NDF	CP	OM	Ash	DM	تیمارها
۰/۵۰ ^{ab}	۱/۱۶ ^{ab}	۵۲/۳۱ ^{ab}	۳۹/۳۳ ^{abc}	۵۶/۶۶ ^{abc}	۳/۳۹ ^e	۹۲/۱۱ ^a	۷/۸۹ ^c	۹۴/۹۳ ^c	شاهد
۰/۴۸ ^b	۱/۱۴ ^b	۵۱/۵۰ ^b	۴۰/۶۶ ^{ab}	۵۸/۰۰ ^{abc}	۳/۹۹ ^d	۹۱/۵۵ ^a	۸/۴۴ ^c	۹۶/۳۰ ^a	آب
۰/۴۶ ^b	۱/۱۲ ^b	۵۰/۶۹ ^b	۴۲/۰۰ ^a	۵۴/۰۰ ^d	۴/۵۸ ^b	۸۶/۳۳ ^c	۱۶/۶۷ ^a	۹۵/۷۰ ^b	هیدروکسید سدیم
۰/۵۲ ^{ab}	۱/۱۷ ^{ab}	۵۲/۸۵ ^{ab}	۳۸/۶۶ ^{bc}	۵۶/۰۰ ^{cd}	۳/۴۶ ^e	۸۶/۴۴ ^c	۱۳/۵۵ ^a	۹۶/۶۶ ^a	پراکسید هیدروژن
۰/۴۸ ^b	۱/۱۴ ^b	۵۱/۷۱ ^b	۴۰/۶۶ ^{ab}	۵۶/۰۰ ^{cd}	۴/۷۶ ^a	۹۰/۰۰ ^b	۱۰/۰۰ ^b	۹۳/۷۶ ^d	قارچ تریکودرما
۰/۵۷ ^a	۱/۲۱ ^a	۵۴/۶۵ ^a	۳۶/۶۶ ^c	۵۹/۳۳ ^{ab}	۴/۵۸ ^b	۹۰/۱۱ ^b	۹/۸۹ ^b	۹۳/۳۳ ^d	قارچ آسپریلیوس
۰/۴۵ ^b	۱/۱۱ ^b	۵۰/۵۵ ^b	۴۲/۰۰ ^a	۶۰/۰۰ ^a	۴/۲۰ ^c	۸۹/۷۷ ^b	۱۰/۲۲ ^b	۹۳/۸۶ ^d	قارچ صدفی
۰/۰۲۲	۰/۰۲۰	۰/۷۹۵	۱/۰۲۸	۱/۰۲۸	۰/۰۵۲	۰/۳۷۵	۰/۳۷۵	۰/۱۲۶	اشتباه معیار میانگین
۰/۰۳۵۴	۰/۰۳۵۴	۰/۰۳۵۴	۰/۰۲۶۹	۰/۰۱۴۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	احتمال معنی‌داری

DM: ماده خشک (درصد)، Ash: خاکستر (درصد ماده خشک)، OM: ماده آلی (درصد ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد ماده خشک)، NDF: الیاف نامحلول در شونده خنثی (درصد ماده خشک)، ADF: الیاف نامحلول در شونده اسیدی (درصد ماده خشک)، TDN: کل مواد مغذی قابل‌هضم، NE_L: انرژی خالص شیردهی (مگا ژول در کیلوگرم)، NE_g: انرژی خالص رشد (مگا ژول در کیلوگرم).
در هر ستون اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<۰/۰۵).

تولید گاز و کینتیک تولید گاز

مقایسه میانگین حجم گاز تولیدی تیمارها در زمان‌های مختلف انکوباسیون (جدول ۲) نشان داد که در مجموع عمل‌آوری باعث کاهش روند تولید گاز در بقایای نخود زراعی شد (p<۰/۰۲). در این خصوص تا زمان ۲۴ ساعت، تأثیر تیمارهای هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن بیشتر از تیمارهای قارچی بود. اما پس از آن تیمارهای مختلف (به جز آب) تأثیر یکسانی در کاهش تولید گاز بقایای نخود زراعی نداشتند.

فراسنجه‌های تولید گاز و تخمینی بقایای نخود زراعی (جدول ۳) در میان تیمارها اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند. تیمارهای آب، هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن و قارچ آسپریلیوس باعث کاهش نرخ تولید گاز نسبت به شاهد شدند (به ترتیب: ۰/۰۳۹، ۰/۰۲۸، ۰/۰۲۷ و ۰/۰۳۶ میلی‌لیتر در ساعت در برابر ۰/۰۴۵ میلی‌لیتر در ساعت). به جز آب، سایر تیمارها باعث کاهش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی قابل متابولیسم و قابلیت هضم ماده آلی شدند. کمترین مقدار این صفات در تیمار پراکسید هیدروژن مشاهده شد (به ترتیب ۰/۴۲ میلی‌مول، ۵/۰۶ مگاژول در کیلوگرم و ۳۳/۷۸ درصد). هر چند که اختلاف آن‌ها با تیمار هیدروکسید سدیم معنی‌دار نبود (به ترتیب ۰/۴۳ میلی‌مول، ۵/۱۰ مگاژول در کیلوگرم و ۳۴/۰۸ درصد).

اندازه‌گیری گاز تولیدی در شرایط برون‌تنی اطلاعات مفیدی را در مورد سرعت و میزان هضم و اثرات عوامل ضد تغذیه ای خوراک فراهم می‌کند (۳۸). افزایش گوارش‌پذیری و تولید گاز مواد خنثی طی فرآیند تخمیر در نتیجه کشت قارچ به‌عواملی مانند گونه قارچ، نوع بستر، مدت زمان کشت، دما و دیگر عوامل بستگی دارد (۴۹). کاهش آن‌ها می‌تواند به دلیل مصرف کربوهیدرات‌های محلول توسط قارچ باشد. اما با گذشت زمان و کامل شدن مرحله میسلیوم دوانی قارچ، به دلیل آزاد شدن قندها و ترکیبات پلیمری بستر، تولید گاز و گوارش‌پذیری افزایش می‌یابد (۵۰). به نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر نیز با افزایش میزان الیاف نامحلول در شونده خنثی در

تیمارهای هیدروکسید سدیم و قارچ صدفی و همچنین افزایش الیاف نامحلول در شونده اسیدی در تیمارهای هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن، قارچ تریکودرما و قارچ صدفی، تولید گاز کاهش یافته است. مطابق پژوهش‌های انجام گرفته، بین الیاف نامحلول در شونده خنثی و اسیدی و نرخ و حجم گاز تولیدی همبستگی منفی وجود دارد (۲۱). افزایش گاز تولیدی حاصل از کاهش الیاف خام، ممکن است در نتیجه افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها به دلیل دریافت منابع کربوهیدرات محلول باشد (۱۶). لیو و همکاران (۲۸) دریافتند که هیدروکسید سدیم تولید گاز کاه برنج را در طی ۴۸ ساعت انکوباسیون افزایش داد. چاجی و همکاران (۱۳) مشاهده کردند که بخاردهی همراه با هیدروکسید سدیم باعث افزایش تجزیه‌پذیری دیواره سلولی تفاله نیشکر شده و قابلیت هضم ماده آلی آن افزایش یافت. اما در پژوهش دانش‌مسرگان و همکاران (۱۶)، قابلیت هضم ماده آلی کاه کنگد در اثر افزودن هیدروکسید سدیم تغییری نکرد. در توافق با پژوهش حاضر، کاهش مقدار گاز تولید شده در پوست بادام عمل‌آوری شده با قارچ پلوروتوس استراتوس و پلوروتوس پلوموناریس در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد (۱). اصلانیان و همکاران (۴) مشاهده کردند که هیدروکسید سدیم پتانسیل تولید گاز کاه سویا را افزایش داد. ضمن اینکه سبب افزایش گوارش‌پذیری ماده‌آلی، انرژی قابل متابولیسم، انرژی خالص و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر شد که مخالف با پژوهش حاضر بود.

قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیری آزمایشگاهی

اثر تیمارهای مختلف بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمینی بقایای نخود زراعی در جدول ۴ ارائه شده است. عمل‌آوری باعث افزایش قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک و ماده آلی بقایای نخود زراعی شد (p<۰/۰۱). در پژوهش حاضر، بیشترین گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی مربوط به تیمار قارچ آسپریلیوس بود (۶۲ درصد). اصولاً بین مقادیر دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با قابلیت هضم یک ماده

خوراکی‌های متعارف بین ۲/۷۴ تا ۴/۶۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است (۱۰). بالاتر بودن عامل تفکیک از محدوده متعارف، نشان‌دهنده وجود عامل ضد تغذیه‌ای در نمونه خوراکی است. دلیل افزایش عامل تفکیک در اثر حضور عوامل ضد تغذیه‌ای آن است که این مواد ممکن است در جریان تخمیر و هضم از نمونه خوراکی شسته شده و در ناپدید شدن ماده خشک سهیم شوند، بدون آن‌که در فرآیند تولید گاز نقش داشته باشند. یا اینکه ممکن است این عوامل سبب جلوگیری از حلالیت سایر ترکیبات به‌خصوص پروتئین‌ها شده باشند. در واقع سبب رقیق شدن مواد مغذی شده و در برابر قابلیت هضم به‌دست‌آمده، تولید گاز و تولید پروتئین میکروبی شکل نگرفته است (۳۰). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تمام تیمارها باعث کاهش بازده تولید گاز شدند ($p < 0.0001$). کمترین مقدار این صفت در تیمار پراکسید هیدروژن مشاهده گردید (۱۶۷/۰۵ میلی‌لیتر). عمل‌آوری باعث افزایش توده میکروبی و بازده توده میکروبی تولید شده در پایان ۲۴ ساعت انکوباسیون شد ($p < 0.0001$). بیشترین مقدار توده میکروبی و بازده توده میکروبی در تیمار قارچ *آسپرژیلوس* مشاهده شد. همبستگی منفی بین تولید گاز و تولید توده میکروبی مشاهده شده است (۱۰). تخمیر سوبسترا توسط میکرو ارگانسیم‌های شکمبه، تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، گاز و پروتئین میکروبی را در پی دارد (۲۲). پروتئین میکروبی تولید شده به‌عنوان منبع پروتئین و بازده پروتئین میکروبی تولید شده در تغذیه نشخوارکنندگان اهمیت زیادی دارد. عواملی از جمله پروتئین خام و محتویات کربوهیدرات‌های خوراک، مقدار پروتئین میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۹). هم‌سو با نتایج پژوهش حاضر، چوداری (۱۴) بیان کرد که عمل‌آوری گندم با پراکسید هیدروژن، قابلیت هضم ماده خشک آن را افزایش داد. این پژوهشگر افزایش نرخ و میزان تجزیه پذیری گندم توسط میکروارگانسیم‌ها را علت افزایش قابلیت هضم بیان کرد. به‌طور کلی، خوراک تخمیر شده قابلیت هضم بهتری دارد که دلیل آن وجود میکروارگانسیم‌های مختلف و آنزیم‌های آن‌ها در این نوع خوراک‌هاست (۲۹). به‌طور کلی با توجه به اینکه در این پژوهش تیمارهای هیدروکسید سدیم و *آسپرژیلوس* نایجر باعث افزایش قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک و نیز افزایش بازده توده میکروبی تولید شده در شرایط برون تنی شدند، پیشنهاد می‌گردد که تأثیر این تیمارها از طریق آزمایش‌های عملکردی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

خوراکی رابطه معکوس وجود دارد. به عبارت دیگر، هرقدر این ترکیبات در ماده خوراکی کاهش یابند، قابلیت هضم آن ماده خوراکی افزایش خواهد یافت (۳۵). در پژوهش حاضر از نظر دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز تیمارهای هیدروکسید سدیم، پراکسید هیدروژن، قارچ *تریکودرما* و قارچ *آسپرژیلوس* رابطه عکس با قابلیت هضم داشتند و مابقی تیمارها برخلاف نتایج قبلی بودند. مکمل‌های محتوی مخمر در جیره دام، فعالیت میکروب‌ها، اعمال تخمیر و هضم مواد در محیط شکمبه را بهبود می‌دهند (۱۷). آل- سامرا و الولی (۲) مشاهده کردند که استفاده از قارچ *تریکودرما* تأثیری بر قابلیت هضم و خصوصیات شکمبه نداشت، اما به‌طور معنی‌داری سبب کاهش مقدار همی‌سلولز نسبت به شاهد گردید. خوروش و همکاران (۲۴) تأثیر هیدروکسید سدیم را بر قابلیت هضم برون‌تنی گاو سویا بررسی کردند. در نتایج مشاهده شد که تیمار اعمال‌شده علی‌رغم این‌که دیواره سلولی گاو سویا را کاهش داد، اما تأثیری بر قابلیت هضم برون‌تنی آن نداشت. مقدار نیتروژن آمونیاکی بقایای نخود زراعی عمل‌آوری نشده ۰/۳۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌دست آمد. تیمارهای پراکسید هیدروژن و قارچ *آسپرژیلوس* باعث کاهش غلظت آمونیاک شدند. اما سایر تیمارها مقدار آن را افزایش دادند. بیشترین مقدار نیتروژن آمونیاکی در تیمار هیدروکسید سدیم مشاهده شد (۰/۵۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر). غلظت نیتروژن آمونیاکی یکی از مؤلفه‌های مهم در تخمین مصرف ماده خشک و قابلیت هضم الیاف می‌باشد. در تضاد با نتایج این مطالعه، اصلانیان و همکاران (۴) گزارش کردند که استفاده از هیدروکسید سدیم میزان نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد. در این پژوهش pH و نیتروژن آمونیاکی بین تیمارهای مختلف یکسان بودند ($p > 0.05$). pH مایع شکمبه، تعادلی از غلظت اسیدهای چرب فرار عمده در شکمبه (استات، پروپیونات، بوتیرات و لاکتات)، آمونیاک، بافر و بزاق است. هرچه میزان تخمیر شکمبه‌ای افزایش یابد، محسولات فرعی حاصل از آن یعنی اسیدهای چرب فرار نیز افزایش یافته که این باعث کاهش pH شکمبه می‌گردد. در نتیجه pH شکمبه شاخصی از میزان تخمیر شکمبه است (۴۶).

در پژوهش حاضر، میزان عامل تفکیک بقایای نخود زراعی ۳/۳۷-۵/۱۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. تمامی تیمارها باعث افزایش میزان عامل تفکیک شدند. بیشترین مقدار عامل تفکیک در تیمار *آسپرژیلوس* مشاهده گردید (۵/۱۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). مقدار عامل تفکیک در

جدول ۲- تاثیر عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر روند تولید گاز بقایای نخود زراعی در زمان‌های مختلف انکوباسیون (میلی لیتر در گرم ماده خشک)

Table 2. Effect of chemical and biological processing on *in vitro* gas production of *cicer arietinum* wastes at different times of incubation (ml/g DM)

تیمار	۲	۴	۶	۸	۱۲	۲۴	۳۶	۴۸	۷۲	۹۶
شاهد	۱۸/۳۳ ^a	۳۶/۶۷ ^a	۵۸/۳۳ ^a	۷۵/۰۰ ^a	۹۱/۶۷ ^a	۱۲۸/۳۳ ^a	۱۵۱/۶۷ ^a	۱۶۶/۶۷ ^a	۱۸۸/۳۳ ^a	۲۰۳/۳۳ ^a
آب	۶/۶۷ ^{b,c}	۲۶/۶۷ ^b	۴۳/۳۳ ^c	۶۳/۳۳ ^b	۸۰/۰۰ ^b	۱۲۶/۶۷ ^a	۱۴۶/۶۷ ^{ab}	۱۶۱/۶۷ ^{ab}	۱۸۳/۳۳ ^{ab}	۱۹۸/۳۳ ^{ab}
هیدروکسید سدیم	۱/۶۷ ^c	۱۳/۳۳ ^c	۲۵/۰۰ ^d	۴۱/۶۷ ^c	۵۳/۳۳ ^d	۹۶/۶۷ ^{cd}	۱۲۳/۳۳ ^{cde}	۱۴۰/۰۰ ^c	۱۵۶/۶۷ ^c	۱۷۳/۳۳ ^c
پراکسید هیدروژن	۰/۰۰ ^c	۱۰/۰۰ ^c	۲۱/۶۷ ^d	۳۱/۶۷ ^c	۴۳/۳۳ ^d	۸۶/۶۷ ^d	۱۱۱/۶۷ ^e	۱۳۳/۳۳ ^c	۱۵۰/۰۰ ^c	۱۶۸/۳۳ ^c
قارچ تریکودرما	۱۶/۶۷ ^a	۳۶/۶۷ ^a	۵۳/۳۳ ^{ab}	۶۶/۶۷ ^{ab}	۷۸/۳۳ ^{bc}	۱۰۸/۳۳ ^{bc}	۱۲۶/۶۷ ^{cd}	۱۴۳/۳۳ ^c	۱۵۶/۶۷ ^c	۱۷۶/۶۷ ^c
قارچ اسپریلوس	۱۳/۳۳ ^{ab}	۳۱/۶۷ ^{ab}	۴۵/۰۰ ^{bc}	۵۸/۳۳ ^b	۶۸/۳۳ ^c	۱۰۱/۶۷ ^{bc}	۱۲۱/۶۷ ^{de}	۱۴۱/۶۷ ^c	۱۵۸/۳۳ ^c	۱۷۵/۰۰ ^c
قارچ صدفی	۱۸/۳۳ ^a	۳۸/۳۳ ^a	۵۳/۳۳ ^{ab}	۶۶/۶۷ ^{ab}	۸۵/۰۰ ^{ab}	۱۱۳/۳۳ ^b	۱۳۵/۰۰ ^{bc}	۱۴۸/۳۳ ^{bc}	۱۶۵/۰۰ ^{bc}	۱۸۰/۰۰ ^{bc}
اشتباه معیار میانگین	۲/۴۳۹	۲/۸۸۶	۳/۲۱۱	۳/۶۱۸	۳/۷۲۶	۳/۹۸۳	۴/۳۶۴	۵/۵۶۳	۷/۱۲۶	۶/۹۵۷
اختلاف معنی‌داری	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۷۹	۰/۰۱۲۴	۰/۰۲۱۲

در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<۰/۰۵).

جدول ۳- تاثیر عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر فراسنجه‌های تولید گاز بقایای نخود زراعی

Table 3. Effect of chemical and biological processing on gas production parameters of *cicer arietinum* wastes

تیمارها	پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر)	نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی مول در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)	انرژی قابل متابولیسم (مگا ژول در کیلوگرم)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)
شاهد	۱۹۳±۴/۳۲	۰/۰۵۰±۰/۰۰۳	۰/۵۶ ^a	۵/۶۹ ^a	۳۷/۹۷ ^d
آب	۱۹۵/۱±۳/۸۵	۰/۰۴۱±۰/۰۰۲	۰/۵۵ ^a	۵/۶۴ ^a	۳۷/۶۷ ^d
هیدروکسید سدیم	۱۸۲/۴±۵/۴۳	۰/۰۲۹±۰/۰۰۲	۰/۴۲ ^{ca}	۴/۸۳ ^{ca}	۳۲/۲۹ ^{ca}
پراکسید هیدروژن	۱۸۶/۳±۸/۳۳	۰/۰۲۴±۰/۰۰۲	۰/۳۸ ^a	۴/۵۵ ^a	۳۰/۴۸ ^a
قارچ تریکودرما	۱۶۲/۹±۴/۹۴	۰/۰۵۲±۰/۰۰۴	۰/۴۷ ^{bc}	۵/۱۴ ^{bc}	۳۴/۳۸ ^{bc}
قارچ اسپریلوس	۱۶۹±۵/۲۲	۰/۰۴۱±۰/۰۰۳	۰/۴۴ ^{bc}	۴/۹۶ ^{bc}	۳۳/۱۸ ^{bc}
قارچ صدفی	۱۶۸/۵±۳/۶۶	۰/۰۵۳±۰/۰۰۳	۰/۴۹ ^b	۵/۲۸ ^b	۳۵/۲۸ ^b
اشتباه معیار میانگین	-	-	۰/۰۱۷	۰/۱۰۷	۰/۷۱۵
اختلاف معنی‌داری	-	-	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱

در هر ستون اعداد با حروف غیر مشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند (p<۰/۰۵).

جدول ۴- تأثیر عمل‌آوری شیمیایی و بیولوژیکی بر قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، نیتروژن آمونیاکی، pH و فراسنجه‌های تخمیری بقایای نخود زراعی

Table 4. Effect of chemical and biological processing on dry matter and organic matter digestibility, ammoniacal nitrogen, pH and estimated parameters of *cicer arietinum* wastes

تیماها	قابلیت هضم ماده خشک (درصد)	قابلیت هضم ماده آلی (درصد)	نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر)	pH	عامل تفکیک (میلی گرم بر میلی لیتر)	بازده تولید گاز (میلی لیتر بر گرم ماده خشک)	توده میکروبی تولید شده (میلی گرم بر گرم ماده خشک)	بازده تولید میکروبی
شاهد	۵۴ ^c	۵۳ ^c	-/۳۷	۶/۴۵ ^a	۳/۳۷ ^c	۲۶۱/۰۷ ^a	۸۳/۶۳ ^d	-/۳۴ ^c
آب	۵۶ ^{bc}	۵۳ ^{bc}	-/۵۲	۶/۳۸ ^b	۴/۰۳ ^b	۲۱۶/۶۷ ^b	۱۱۰/۹۸ ^c	-/۴۵ ^b
هیدروکسیدسدیم	۵۸ ^b	۵۷ ^{ab}	-/۵۵	۶/۴۲ ^{ab}	۴/۹۷ ^a	۱۷۰/۴۶ ^c	۱۳۸/۳۳ ^{ab}	-/۵۵ ^a
پراکسید هیدروژن	۵۸ ^b	۵۵ ^{bc}	-/۳۲	۶/۴۲ ^{ab}	۴/۸۸ ^a	۱۶۷/۰۵ ^c	۱۳۱/۰۸ ^{bc}	-/۵۴ ^a
قارچ تریکودرما	۵۷ ^{bc}	۵۶ ^{bc}	-/۴۴	۶/۴۲ ^{ab}	۴/۲۷ ^b	۲۰۷/۵۳ ^b	۱۲۲/۸۰ ^{bc}	-/۴۸ ^b
قارچ اسپریلوس	۶۳ ^a	۶۳ ^a	-/۳۴	۶/۳۹ ^b	۵/۱۳ ^a	۱۷۴/۵۱ ^c	۱۶۰/۲۸ ^a	-/۵۷ ^a
قارچ صدفی	۵۵ ^{bc}	۵۳ ^{bc}	-/۴۲	۶/۳۸ ^b	۴/۲۳ ^b	۲۰۴/۸۱ ^b	۱۱۴/۲۳ ^c	-/۴۸ ^b
اشتباه معیار میانگین	-/۰۱۲	-/۰۱۶	-/۰۹۴	-/۰۱۹	-/۱۶۲	۵/۸۰۲	۷/۷۱۸	-/۰۱۹
اختلاف معنی‌داری	-/۰۱۱۴	-/۰۰۹۸	-/۵۵۱۹	-/۱۴۵۳	</۰۰۰۱	</۰۰۰۱	-/۰۰۰۳	</۰۰۰۱

در هر ستون، اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($p < 0.05$).

منابع

1. Akinfemi A., O.A. Adu and F. Doherty. 2009. Conversion of sorghum stover into animal feed with white-rot fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. *African Journal of Biotechnology*, 9(11): 1706-1712.
2. Al-Samaraae, W.H. and S.N. Alwaeli. 2016. Effect of treated barley straw with *Trichoderma harzianum* fungi in some productive characteristic, 5(4): 44-48.
3. AOAC. 2005. Official methods of analysis. Association of official analytical chemists. Washington, DC. USA.
4. Aslanian, A., F. Ghanbari, J. Bayat Kouhsar and B. Karimi Shahraki. 2015. Effects of processing with gamma ray, sodium hydroxide and calcium oxide on gas production parameters and digestibility of soybean straw. *Journal of Animal Productions* 2: 235-248 (In Persian).
5. Azizi-Shotorkhoft, T., H. Mohammadabadi, M. Motamedi Chaji and H. Fazaeli. 2016. Isolation and identification of termite gut symbiotic bacteria with lignocellulose-degrading potential and their effects on the nutritive value for ruminants of some by-products. *Animal Feed Science and Technology*, 1-31.
6. Babayi, M., F. Ghanbari, A.M. Gharehbash and J. Bayat Kouhsar. 2016. Effects of processing with electron beam, hydrogen peroxide and hydrobromic acid on the nutritional value of vetch wastes. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8(3): 441-454 (In Persian).
7. Bashtani, M., J. Farzadmehr, O. Ghafari, N. Afzali and M. Sharifi. 2015. Effect of growth stage and processing by NaOH and CaOH₂ on chemical composition and degradation parameters of *Haloxylon sp.* pasture plant in seeding stage. *Research on Animal Production*, 6(12): 96-104 (In Persian).
8. Baytok, E., T. Aksu, M.A. Karsli and H. Muruz. 2005. The effects of formic acid, molasses and inoculant as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. *Turk J Vet Animal Science*, 29: 469-474.
9. Blummel, M. and E.R. Orskov. 1993. Composition of *in vitro* gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting food intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40: 109-119.
10. Blummel, M., P.S. Makkar and K. Becker. 1997. *In vitro* gas production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77: 24-34.
11. Bouchard, J., M. Methot and B. Jordan. 2006. The effects of ionizing radiation on the cellulose of woodfree paper. *Cellulose*, 13: 601-610.
12. Broderick, G.A. and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and *in vitro* media. *Journal of Animal Science*, 63: 64-75.
13. Chaji, M., T. Mohammadabadi, M. Mamouie and S. Tabatabaei. 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.
14. 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.
15. Chaudhry, A.S. 2000. Rumen degradation *in sacco* in sheep of wheat straw treated with calcium oxid, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide *Animal Feed Science and Technology*, 83: 313-323.
16. Danesh Mesgaran, M., M. Malakkhahi, B. Heravi Moussavi, A.R. Vakili and A. Tahmasbi. 2010. In situ ruminal degradation and *in vitro* gas production of chemically treated sesame stover. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9: 2256-2260.
17. Denev, S.A., T.Z. Peeva, P. Radulova, N. Stancheva, G. Staykova, G. Beev, P. Todorova and S. Tchobanova. 2007. Yeast Cultures in Ruminant Nutrition. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 13: 357-374.
18. Getachew, G., M. Blummel, H. Makkar and K. Becker. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 72: 261-281.
19. Ghiasvand, M., K. Rezayazdi and M. Dehghan Banadaki. 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(1): 93-104 (In Persian).
20. Goodarzi, N., A.A. Gheisari and M. Toghiani. 2018. The effects of processing and phytase on performance and phosphorus digestibility in broilers. *Research on Animal Production*, 8(18): 38-46 (In Persian).
21. Haddi, M.L., S. Filacorda, K. Meniai, F. Rollin and P. Susmel. 2003. *In vitro* fermentation kinetics of some halophyte shrubs sampled at three stage maturity. *Animal Feed Science and Technology*, 104: 215-225.
22. Jalc, D., F. Nerud, R. Zitnan and P. Siroka. 1996. The effect of White-rot basidiomycetes on chemical composition and *in vitro* digestibility of wheat straw. *Folka Microbiology*, 41: 73-75.
23. Karabulut, A., O. Canbolat, H. Kalkan, F. Gurbuzoll, E. Sucu and I. Filya. 2007. Comparison of *in vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. *Asian Australian Journal of Animal Sciences*, 20: 517-522.
24. Khorvash, M., S. Kargar, T. Yalchi and G.R. Ghorbani. 2010. Effects 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.

25. Kilicalp, N., H. Hızlı and D. Mart. 2017. Chemical composition and rumen degradation characteristics of different Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) lines straw. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 5(5): 459-463.
26. Lardy, G. and V. Anderson. 2009. Alternative feeds for ruminants, North Dakota State University, Fargo, North Dakota Extension Service, AS-1182, www.ag.ndsu.edu
27. Lena, G. and G.B. Quaglia. 1992. Sacharification and protein enrichment of sugar beet pulp by *Pleurotus florida*. Biotechnology Technology, 6: 571-574.
28. Liu, J.X., A. Susenbeth and K.H. Sudekum. 2002. *In vitro* gas production measurements to evaluate interactions between untreated and chemically treated rice straws, grass hay, and mulberry leaves. Journal of Animal Science, 80: 517-524.
29. Makkar, H.P.S., M. Blummel and K. Becker. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. British Journal of Nutrition. 73: 897-913.
30. McDonald, P., R.A. Edwards, J.F.D. Greenhalgh and C.A. Morgan. 1995. Animal nutrition (6th ed.). USA: Longman Scientific and Technical.
31. Mehrabi, A., T. Ghoorchi and S.E. Razavi. 2014. Comparison of chemical composition and rumen degradability among four types of straws treated by *Trametes versicolor* fungus. Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 107: 49-60 (In Persian).
32. Menk, KH. and H. Steingass. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Animal Research Development, Separateprint, 28: 7-55.
33. Menke K.H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz and W. Schneider. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science. 92: 217-222.
34. National Research Council. 2001. *Nutrient requirements of dairy cattle*. National Academies Press.
35. Nazem, K., Y. Rouzbehan and S.A. Shojaosadati. 2008. The nutritive value of citrus pulp (*lemon and orange*) treated with *Neurospora sitophila*. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 12: 495-506.
36. Orskov, E.R. and I. McDonald. 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.
37. Sabzekar, H. 2014. Nutritional value of irradiated millet straw using nylon bag and gas production methods. M.Sc. Thesis of Animal Nutrition. Zabol University, 92 pp (In Persian).
38. Salamatazar, M., R. Salamadoust-nobar and N. Maheri-sis. 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.
39. Sarnklong, C., J.W. Cone, W. Pellikaan and W.H. Hendriks. 2010. Utilization of rice straw and different treatments to improve its feed value for ruminants: A review. Asian-Australian Journal of Animal Science, 23: 680-692.
40. SAS. 2003. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.1 Edition. SAS Institute, Cary, NC, USA.
41. Shamim, H.M., M.S. Hussain and A. Al-Mahin. 2016. Solid-state fermentation of coconut coir by *Pleurotus alocou* increases the anti-oxidant properties and nutritional value. Biotechnology, 15(6): 141-147.
42. Shojaosadati, S.A., R. Faradouni and A. Madad-Noue. 1999. Protein enrichment of lignocellulosic substrates by solid state fermentation using *Neurospora sitophila*. Conservation and Recycling, 27: 73-78.
43. Shrivastava, B., S. Thakur, Y.P. Khasa, A. Gupte, A.K. Puniya and R.C. Kuhad. 2011. White-rot fungal conversion of wheat straw to energy rich cattle feed. Biodegradation, 22: 823-831.
44. Theodorou, M.K., B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A.B. McAllan and J. France. 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.
45. Tuyen, V. D., J.W. Cone, J.J.P. Baars, A.S.M. Sonnenberg and W.H. Hendriks. 2012. Fungal strain and incubation period affect chemical composition and nutrient availability of wheat straw for rumen fermentation. Bioresource Technology, 111: 336-342.
46. Van Soest, P.J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. Cornell University Press, Ithaca, New York. 374 pp.
47. Yalchi, T. and B. Hajieghrari. 2011. Effect of fungal treatment on chemical composition and *in vitro* ruminal digestibility of some agricultural residues. African J. Biotechnol, 10(85): 19707-19713.
48. Yang, I., J. Cao, Y. Jin, H.M. Chang, H. Jameel, R. Phillips and Z. Li. 2012. Effect of sodium carbonate pretreatment on chemical compositions and enzymatic saccharification of rice straw. Bioresource Technology, 124: 283-291.
49. Zadrazil, F. 1984. Microbial conversion of lignocellulose into feed. In: Straw and other Fibrous By-product as Feed. Sundstol, F. and Owen, E. eds, 276-292. Elsevier.
50. Zadrazil, F. 1997. Changes in *in vitro* digestibility of wheat straw during fungal growth and after harvest of oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) on laboratory and industrial scale. Journal of applied animal Research, 11(1): 37-48.

Effect of Chemical and Biological Processing Methods on Chemical Composition, Gas Production Parameters and *In Vitro* Digestibility of *Cicer Arietinum* Wastes

Kobra Soltani Naseri¹, Farzad Ghanbari², Javad Bayat Koohsar³ and Fakhtak Talei⁴

1 and 3- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad-e Kavus

2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad-e-Kavus (Corresponding author: farzadghanbari@yahoo.com)

4- Assistant Professor of Plant Production Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad-e-Kavus

Received: June 3, 2018

Accepted: August 28, 2018

Abstract

This research was conducted in order to investigate the effect of chemical and biological processing on the chemical composition, gas production parameters and *in vitro* digestibility of *Cicer arietinum* wastes in a completely randomized design (7 treatments and 3 replicates). Treatments were: unprocessed *Cicer arietinum* wastes (control) and processed with water (2.5 liter/kg DM), sodium hydroxide (50 g/kg DM), hydrogen peroxide (114 ml/ kg DM), *Aspergillus niger*, *Trichoderma harzianum* and *Pleurotus ostreatus* fungi (5×10^5 spores/ml). The chemical composition of the samples was determined using the standard methods. Gas production test was used to estimate the parameters of gas production in samples. *In vitro* digestibility of the samples was determined by the batch culture method. Processing was effective on chemical composition of treatments ($P < 0.03$). Except for water, the other treatments increased ash and decreased organic matter. Crude protein content was increased by different treatments. The highest amount was observed in *Trichoderma harzianum* (4.76 percent). Sodium hydroxide decreased neutral detergent fiber compared to control (54 percent versus 56.66 percent). Processing decreased gas production potential and rate. The lowest amount of these traits was observed in *Trichoderma harzianum* (162.9 ml/ 200 mg DM and 0.052 ml/ h respectively). Sodium hydroxide and *Aspergillus niger* treatments increased ($P < 0.01$) dry matter and organic matter digestibility (58 and 62 percent for dry matter digestibility, 57 and 62 percent for organic matter digestibility respectively). Microbial mass production and its efficiency was increased by the treatments ($P < 0.0003$). The highest increase was seen in *Aspergillus niger* treatment (160.28 mg/g DM and 0.48 respectively). Based on the results of this research, sodium hydroxide and *Aspergillus niger* treatments were effective in improving the nutritional value of *Cicer arietinum* wastes in laboratory conditions.

Keywords: *Aspergillus niger*, Nutritional value, *Cicer arietinum* wastes, *Trichoderma harzianum*, hydrogen peroxide, sodium hydroxide, *Pleurotus ostreatus*