

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

صفحه‌های ۴۴۵-۴۳۱

# بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

عباس رجایی راد<sup>۱</sup>، محسن ساری<sup>۲\*</sup>، محمد جواد ضمیری<sup>۳</sup>، مرتضی چاچی<sup>۴</sup> و سمیه سالاری<sup>۲</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان - ایران

۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان - ایران

۳. استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران

۴. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، خوزستان - ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۲۰

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۱/۳۰

### چکیده

برگ خرما در یک آزمایش فاکتوریل (۳ × ۳) با دماهای ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ دقیقه در قالب طرح کاملاً تصادفی در رآکتور فرآوری‌کننده با استفاده از آهک فرآوری شد. فراسنجه‌های تخمیر با استفاده از روش تولید گاز بررسی شد. فرآوری سبب کاهش میزان لیگنین از ۱۳/۰ درصد در برگ خام به ۶ درصد در تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه گردید (P<۰/۰۱). افزایش دما و زمان فرآوری، سبب کاهش درصد خاکستر شد (P<۰/۰۱). میزان درصد کلسیم برگ از ۰/۵۸ قبل از فرآوری به ۰/۹۴ درصد در برگ فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه افزایش یافت (P<۰/۰۱). اثر متقابل دما و زمان بر دیواره سلولی، اتلاف ماده خشک، قابلیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر و تولید گاز معنی‌دار بود (P<۰/۰۱). تولید گاز در پایان ۷۲ ساعت انکوباسیون برگ خام ۷۶/۲ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک بود و با فرآوری در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴۰ دقیقه به ۱۸۹/۸ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک افزایش یافت. با افزایش شدت فرآوری قابلیت هضم ماده آلی از ۲۶/۵ درصد در تیمار ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه به ۳۶/۴ درصد در تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه افزایش یافت (P<۰/۰۱). آزمایش با میکروسکوپ الکترونی نشان داد که حفرات در برگ فرآوری شده نسبت به برگ خام افزایش یافته است. نتایج نشان داد که با فرآوری مرطوب با آهک همراه با حرارت، میزان لیگنین کاهش یافته و قابلیت هضم آزمایشگاهی برگ خرما افزایش می‌یابد.

**کلیدواژه‌ها:** آهک، ارزش غذایی، برگ خرما، عمل‌آوری، لیگنین

## مقدمه

برگ خرما پسماند هرس درختان نخل است که میزان آن در مناطق جنوبی کشور به خصوص استان‌های بوشهر، خوزستان، هرمزگان و کرمان قابل توجه می‌باشد. این پسماند حاوی کربوهیدرات‌های ساختاری از جمله سلولز و همی سلولز، میزان ناچیزی پروتئین و چربی خام و ۱۴ درصد لیگنین است [۲]. قابلیت هضم برگ خشک خرما به دلیل آرایش منظم سلولز و پیوندهای فیزیکی نیرومند بین کربوهیدرات‌های ساختاری و درصد زیاد لیگنین، کم است [۲]. در ضمن، گروه‌های استیل همی سلولز، هضم آنزیمی کربوهیدرات‌های آن را کاهش می‌دهد [۱۸]. قابلیت هضم برون تنی ماده آلی برگ خشک خرما کمتر از ۲۰ درصد گزارش شده است [۲]. روش‌های مکانیکی، فیزیکی، شیمیایی و زیستی برای بهبود ارزش غذایی پسماندهای لیگنوسلولزی بررسی شده‌اند [۲۲]. فرآوری خشک با مواد قلیایی (سدیم هیدروکسید) موجب کاهش انتخابی لیگنین و پخش کردن فیزیکی دوباره آن و نیز بهبود قابلیت هضم برون تنی ترکیبات لیگنوسلولزی شده است [۲۲]، در حالی که با تغذیه پسماندهای فرآوری شده با مواد قلیایی در فرآوری خشک، به دلیل باقی ماندن این ترکیبات در آنها، محیط شکمبه هیپوتونیک می‌شود، میزان رقیق بودن افزایش می‌یابد و در نتیجه قابلیت هضم نیز کاهش می‌یابد [۲۲]. با افزایش زمان در فرآوری سرشاخه درخت خرما با فشار بخار، تولید گاز و قابلیت هضم افزایش می‌یابد، ولی آسیب حرارتی به قندهای آزاد شده از هیدرولیز اسیدی همی سلولز بیشتر می‌شود که در نتیجه ترکیبات شبه لیگنینی افزایش می‌یابد [۱]. فرآوری با ترکیبات اسیدی به طور کارآمد بلورینگی سلولز را کاهش داده و باعث کاهش درصد لیگنین و نیز افزایش گوارش پذیری توده لیگنوسلولزی می‌شود، ولی به دلیل خورندگی برای تجهیزات و نیز امکان آسیب رسانیدن به کارکنان، از

همپاشی زیاد همی سلولز [۱۱] و تولید برخی ترکیبات بازدارنده تخمیر در شکمبه قابل توصیه نیست [۱۵]. آهک (کلسیم هیدروکساید) یک ترکیب بازی ضعیف است. با این وجود، به دلیل ارزانی، ایمن بودن و قابلیت بازیافت، در صنعت تولید سوخت‌های زیستی از پسماندهای لیگنوسلولزی استفاده می‌شود [۸]. فرآوری مرطوب با آهک به عنوان یک روش برای کاهش انتخابی لیگنین و گروه‌های استیل همی سلولز بدون تخریب قندهای همی سلولز شناخته شده است [۱۳]. فرآوری مرطوب با آهک دو حسن عمده دارد: نخست اینکه بقایای قلیایی و مواد ضد تغذیه احتمالی حاصل از فرآوری را شسته یا رسوب می‌دهد و در نتیجه تأثیر نامطلوبی روی محیط شکمبه ندارد و دوم این که به طور انتخابی لیگنین و گروه‌های استیل همی سلولز را حذف می‌کند [۲۵]. تأثیر آهک در دمای زیاد، محیط مرطوب و عمل مخلوط شدن با توده، به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد [۲۶].

طی سال‌های اخیر میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning Electron Microscopy) برای نمایش خصوصیات ساختاری و مورفولوژی نمونه‌های خام و فرآوری شده برای هیدرولیز آنزیمی در صنعت سوخت زیستی، مورد استفاده قرار گرفته است [۱۷]. در این میکروسکوپ با بمباران الکترونی نمونه، تصاویری از اجسامی به کوچکی ۱۰ نانومتر تولید شده و اطلاعاتی درباره توپوگرافی نمونه، خصوصیات سطح آن، شکل، اندازه و نحوه قرار گرفتن ذرات در سطح جسم در اختیار قرار می‌گیرد. این روش دقت و وضوح زیادی دارد و می‌تواند ساختار دیواره سلولی را پیش و پس از فرآوری نشان دهد [۱۹]. سطح بافت پسماندهای فرآوری شده، می‌تواند شاخصی از تغییرات لیگنین، سلولز و همی سلولز در فرآوری باشد و در نتیجه تفسیر نتایج فرآوری را مطلوب تر می‌کند [۲]. با این حال، مهمترین محدودیت این

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

فرسودگی موتور، به کمک مولتی‌تایمر دیجیتال، زمان روشن بودن رآکتور ۵ دقیقه و زمان استراحت آن، ۱ دقیقه برنامه‌ریزی شد. برای کاهش اتلاف انرژی، دور مخزن با یک لایه پشم شیشه پوشانیده شد. با نصب یک پمپ، دما بین دو دیواره مخزن رآکتور یکنواخت شد. در این زمان، منبع تولید گرما برای صرفه‌جویی در مصرف انرژی به صورت خود تنظیم خاموش شد. پس از پایان یافتن زمان واکنش، موتور و کنترل‌کننده دیجیتال دما، خاموش و شیر تخلیه باز و بارگیری شیرابه و توده انجام شد.

برای تعیین اتلاف ماده خشک در اثر شسته شدن، ۲۰ گرم برگ خشک همراه با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب در یک بطری یک لیتری در ۴۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ و با قیف بوختر و کاغذ صافی، صاف شد. این کار تا شفاف شدن رنگ ماده فیلتر شده تکرار شد. میزان اتلاف ماده خشک به کمک رابطه ۱ محاسبه شد [۱۳]:

رابطه ۱)

$$L = \frac{W1 \times (1 - X1) - W2 \times (1 - X2)}{W1 \times (1 - X1)} \times 100$$

در این رابطه، L میزان اتلاف در اثر شسته شدن، W<sub>1</sub> وزن توده خام در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، W<sub>2</sub> وزن توده خام شسته و خشک شده در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، X<sub>1</sub> درصد رطوبت توده خام خشک شده در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد و X<sub>2</sub> درصد رطوبت توده خام شسته و خشک شده در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد است.

اسیدیته (pH) شیرابه (توده و آهک) پیش از فرآوری و پس از آن، اندازه‌گیری شد. در پایان زمان فرآوری، pH محتویات راکتور با دمیدن دی‌اکسیدکربن و رسوب آهک، به ۸ رسانیده شد تا آهک بازیافت گردد. سپس، کل نمونه از فیلتر خلاء با قیف بوختر عبور داده شد تا میزان اتلاف ماده خشک تعیین شود. میزان ۱۰ گرم از نمونه به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای تهیه عکس با

روش این است که تصویر فقط از سطح تهیه شده و اطلاعاتی از بافت درونی نمونه عرضه نمی‌گردد [۱۷].

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر فرآوری مرطوب با آهک در رآکتور دو جدار کنترل‌کننده دما و رطوبت، بر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم برگ خشک خرما با استفاده از روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی بود.

## مواد و روش‌ها

برگ‌های هرس شده درخت خرما از سه نخلستان رقم خاصویی، از شهرستان جم در استان بوشهر جمع‌آوری و به آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه شیراز منتقل شد. کلیه قسمت‌های برگ (ساقه، برگچه و دم‌برگ) با آسیاب مجهز به الک یک میلی‌متری آسیاب شده و در رآکتور دوجداره فرآوری‌کننده (مجهز به تنظیم دما، رطوبت، زمان و عمل همزدن) فرآوری لازم انجام شد. در کلیه فرآوری‌ها مقدار ۶۰ گرم ماده آلی برگ خشک خرما با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب و ۱۸ گرم آهک به رآکتور اضافه شد. فرآوری نمونه‌ها در سه دما (۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) و سه زمان (۸۰، ۱۶۰ و ۲۴۰ دقیقه) به صورت فاکتوریل ۳ × ۳ انجام شد و در پایان عملیات نه نمونه فرآوری شده حاصل گردید. برگ خام فرآوری نشده و برگ شسته شده به عنوان تیمارهای کنترل در نظر گرفته شد.

رآکتور فرآوری‌کننده از یک مخزن دو لیتری دو جداره فولاد زنگ‌نزن (قطر جداره داخلی ۱۰ و قطر جداره بیرونی ۵ میلی‌متر) ساخته شده است. دمای مورد نیاز درون رآکتور، با استفاده از یک فنر گرم‌شونده، نشانگر حساس به دما و تنظیم‌کننده دیجیتال، تأمین شد. پس از مهیا شدن دمای مورد نظر، توده و محلول آهک به رآکتور انتقال و مخلوط‌سازی مواد درون مخزن به کمک دو میله ثابت و متحرک و یک موتور گیربکس انجام شد. برای کاهش

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

سانتی متر، شماره ۲۲) مجهز به سنسور فشار دیجیتال در درپوش بوتیلی ویال، در زمان‌های صفر، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون اندازه‌گیری شد. حجم گاز تولیدی هر نمونه، براساس میانگین حجم گاز تولیدی در پنج ویال شاهد (فقط دارای محیط کشت و مایع شکمبه)، تصحیح شد. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون، محتویات هر ویال به درون یک بشر ریخته شد و با اضافه کردن ۲۰ میلی‌لیتر محلول شوینده خنثی، برای یک ساعت جوشانیده و صاف شد. ماده باقیمانده در آن و سپس در کوره گذاشته شد و قابلیت هضم واقعی ماده آلی به صورت وزنی اندازه‌گیری شد.

غلظت کلسیم و منیزیم با روش جذب اتمی [۱۴] و غلظت سدیم و پتاسیم به ترتیب با روش‌های اسپکتروفتومتری و فلیم فتومتری [۲۰] اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان غلظت کلسیم، از نترات کلسیم در غلظت‌های ۵ تا ۵۰ بخش در میلیون به عنوان استاندارد استفاده شد. با توجه به زیاد بودن غلظت کلسیم و منیزیم نمونه‌های فرآوری شده، نمونه‌ها به نسبت یک به ۳۰ برای اندازه‌گیری کلسیم و به نسبت یک به ۱۵۰ برای اندازه‌گیری منیزیم رقیق شدند.

عکس‌های میکروسکوپ الکترونی روبشی در بخش مواد دانشکده مهندسی دانشگاه شیراز تهیه شد. معادل ۱۰ گرم از نمونه‌های فرآوری شده که از پیش به فریزر انتقال داده شده بود، با خشک‌کن انجمادی خشک و با دستگاه پوشش‌دهنده تحت خلأ و به کمک گاز آرگون با طلا پوشش داده شد. در مرحله بعد، در دستگاه میکروسکوپ الکترونی روبشی، باریکه‌ای از الکترون به نمونه‌ها تابیده و عکس‌های تهیه شده از نمونه فرآوری نشده (کنترل) و فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه و ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه با بزرگنمایی ۳۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر، فاصله پروب دوربین تا نمونه بین هشت تا

میکروسکوپ الکترونی روبشی انتقال یافت و باقیمانده تفاله، روی یک ورق آلومینیوم ریخته شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ۷۲ ساعت خشک و در کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار در دمای اتاق نگهداری شد.

پروتئین خام با دستگاه میکروکلدال و چربی خام (عصاره اتری) با دستگاه سوکسله اندازه‌گیری شد. درصد ماده خشک و خاکستر براساس روش استاندارد اندازه‌گیری شد [۴]. اندازه‌گیری بخش‌های فیبری (ADF و NDF) نمونه‌ها در کیسه‌های داگرونی و به کمک محلول‌های شوینده خنثی و اسیدی انجام شد [۲۳]. برای اندازه‌گیری لیگنین نامحلول در شوینده اسیدی (ADL)، کیسه‌ها پس از جوشاندن در محلول ADF، برای سه ساعت در اسید ۷۲ درصد قرار داده شدند [۲۳]. برای آنالیز بخش فیبری، به دلیل ویژگی‌های مواد لیگنینی سلولزی، آنزیم آلفا‌آمیلاز مقاوم به گرما اضافه نشد.

آزمون تولید گاز در آزمایشگاه تغذیه دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان انجام شد. از مایع شکمبه چهار گوسفند یک‌ساله قبل از خوراک‌دهی صبحگاهی نمونه‌گیری شد و با پارچه ملامل دو لایه، صاف و به محلول بی‌هوازی شده محیط کشت (دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد) اضافه شد [۱۸]. مخلوط محیط کشت و مایع شکمبه در دمای  $39/0 \pm 0/4$  درجه سانتی‌گراد برای ۱۵ دقیقه زیر جریان پیوسته‌ای از دی‌اکسیدکربن قرار داده شد. سپس، ۳۰ میلی‌لیتر این مخلوط به درون ویال‌های دارای ۳۰۰ میلی‌گرم نمونه که برای یک شبانه‌روز در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده بود، ریخته شد و برای ۲۰ ثانیه فضای بالای ویال‌ها در معرض جریان دی‌اکسیدکربن قرار گرفت. سپس کشت ویال‌ها در حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. ویال‌ها با درپوشی از جنس بوتیل بسته شدند و یک درپوش آلومینیومی روی آن پرس شد. حجم گاز با فرو کردن سوزن (طول: ۲/۵۴

## تولیدات دامی

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

اثر دما، زمان و اثر متقابل دما و زمان فرآوری بر دیواره سلولی و دیواره سلولی به‌غیر از همی سلولز معنی‌دار شد ( $P < 0/01$ ). با افزایش دما و زمان فرآوری کاهش معنی‌دار این اجزای فیبری رخ داد ( $P < 0/01$ ). درصد دیواره سلولی برگ فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه ۸۱/۳ درصد بود و در برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۶۰ دقیقه به کمترین میزان (۷۶/۰ درصد) رسید. شسته شدن سبب کاهش محتوای سلولی و در نتیجه افزایش درصد دیواره سلولی و دیواره سلولی به‌غیر از همی سلولز شد (جدول ۱).

دیواره سلولی و دیواره سلولی به‌غیر از همی سلولز در برگ شسته شده نسبت به برگ خام و تیمارهای فرآوری شده بیشتر بود ( $P < 0/01$ ). با اینکه فرآوری در مجاورت آب انجام شده است (۱۰ میلی‌لیتر به ازای هر گرم ماده آلی) اما تمام تیمارهای فرآوری شده، درصد دیواره سلولی کمتری نسبت به برگ شسته شده داشتند ( $P < 0/01$ ). کاهش دیواره سلولی و دیواره سلولی به‌غیر از همی سلولز با افزایش دما و زمان فرآوری را می‌توان به شسته شدن مواد درون سلول، کاهش لیگنین، همی سلولز و حتی سلولز نسبت داد. با افزایش دما و زمان فرآوری درصد حذف لیگنین افزایش یافت و سبب کاهش اجزای فیبری شد ( $P < 0/01$ ). حذف کلیه گروه‌های استیل همی سلولز در فرآوری با آهک گزارش شده است [۹]. قسمت‌های فیبری برگ خرما با آهک فرآوری گردید و حذف ۲۵ درصد همی سلولز و ۵۰ درصد لیگنین گزارش شده است [۳]. این یافته‌ها مطابق با نتایج آزمایش حاضر است که با افزایش دما و زمان فرآوری درصد دیواره سلولی و دیواره سلولی به‌غیر از همی سلولز کاهش یافته است. با افزایش شدت فرآوری تخریب بیشتر همی سلولز و لیگنین و حفظ سلولز گزارش شده است [۲۶]. ساختار بی‌شکل، شاخه‌ای و گروه‌های استر و اتری موجود در همی سلولز سبب کاهش

۱۲ میلی‌متر، ولتاژ شتابی ۲۰ کیلوولت و با آشکارکننده الکترون ثانویه گرفته شدند [۱۹].

داده‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی، با آرایش فاکتوریل  $3 \times 3$  (سه سطح دما و سه سطح زمان) و سه تکرار با رویه جی ال ام نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) برای مدل [۲] تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی مقایسه شدند:

رابطه (۲)

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk}$$

در این رابطه،  $Y_{ijk}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین کل،  $A_i$  اثر دما،  $B_j$  اثر زمان،  $(AB)_{ij}$  اثر متقابل دما و زمان و  $e_{ijk}$  خطای آزمایش است.

## نتایج و بحث

با افزایش دما و زمان فرآوری، میزان اتلاف ماده خشک افزایش یافت ( $P < 0/01$ )، اما به دلیل یکنواخت نبودن میزان اتلاف در شرایط مختلف زمانی و دمایی، اثر متقابل بین دما و زمان نیز معنی‌دار شد ( $P < 0/01$ )، به طوری که اتلاف ماده خشک تیمار فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه و تیمار فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه به ترتیب ۱۳/۲ و ۲۸/۱ درصد بود (جدول ۱). اتلاف ماده خشک در پژوهش‌های فرآوری با آهک گزارش شده است [۹]. قسمت‌های مختلف برگ خرما در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در زمان‌های مختلف با آهک فرآوری شد [۳] و با افزایش زمان فرآوری، میزان اتلاف ماده خشک بیشتر بود. اتلاف ماده خشک برگ خرما در مجاورت آب ۱۰/۰ درصد بود. اتلاف ناشی از کاهش پروتئین خام، چربی و مواد محلول در شوینده خنثی می‌باشد ( $P < 0/01$ ). افزایش حذف لیگنین و دیواره سلولی با افزایش دما و زمان فرآوری توجیه دیگری برای کاهش ماده خشک در تیمارهای فرآوری با افزایش دما و زمان

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

شده از تجزیه لیگنین و کربوهیدرات‌ها با هیدروکسید کلسیم واکنش داده و تشکیل کربنات کلسیم می‌دهد که می‌تواند با تشکیل لایه‌های محافظتی، از تخریب کربوهیدرات‌ها به‌خصوص سلولز، پیش‌گیری کند [۸].

مقاومت و ازهم‌پاشی آن در فرآوری می‌شود [۸]. کریستالینیتی زیاد و پیوندهای هیدروژنی بیشتر سلولز در مقایسه با همی‌سلولز، مقاومت بیشتر آن را در فرآوری موجب می‌گردد [۶]. فرضیه دیگری که برای حفظ سلولز در فرآوری مطرح شده این است که دی‌اکسیدکربن حاصل

جدول ۱. ترکیب شیمیایی و اتلاف برگ خرمای فرآوری شده با آهک در شرایط مختلف (درصد ماده خشک)

اتلاف ماده خشک	ADL	ADF	NDF	چربی خام	پروتئین	زمان*	دما*	تیمار
۱۳/۲ <sup>f</sup>	۱۱/۲ <sup>c</sup>	۵۸/۸ <sup>b</sup>	۸۱/۳ <sup>bc</sup>	۱/۰۲ <sup>c</sup>	۲/۴۴ <sup>b</sup>	۸۰	۴۰	۱
۱۵/۹ <sup>e</sup>	۹/۴۲ <sup>d</sup>	۵۶/۸ <sup>bc</sup>	۸۰/۱ <sup>bc</sup>	۰/۹۴ <sup>d</sup>	۲/۴۲ <sup>bc</sup>	۱۶۰	۴۰	۲
۱۹/۳ <sup>d</sup>	۸/۴۹ <sup>fe</sup>	۵۲/۳ <sup>de</sup>	۸۱/۶ <sup>b</sup>	۰/۸۲ <sup>e</sup>	۲/۳۵ <sup>c</sup>	۲۴۰	۴۰	۳
۱۲/۶ <sup>f</sup>	۸/۹۶ <sup>ed</sup>	۵۷/۲ <sup>bc</sup>	۸۷/۶ <sup>a</sup>	۰/۹۰ <sup>d</sup>	۲/۴۶ <sup>b</sup>	۸۰	۸۰	۴
۱۹/۸ <sup>cd</sup>	۷/۹۴ <sup>fg</sup>	۵۴/۶ <sup>cd</sup>	۸۱/۳ <sup>bc</sup>	۰/۷۵ <sup>f</sup>	۲/۳۵ <sup>c</sup>	۱۶۰	۸۰	۵
۲۳/۴ <sup>b</sup>	۷/۳۰ <sup>g</sup>	۵۱/۴ <sup>e</sup>	۷۸/۴ <sup>cde</sup>	۰/۶۹ <sup>fg</sup>	۲/۲۱ <sup>d</sup>	۲۴۰	۸۰	۶
۲۱/۵ <sup>c</sup>	۸/۶۷ <sup>def</sup>	۵۲/۲ <sup>ed</sup>	۷۸/۷ <sup>bcd</sup>	۰/۷۲ <sup>f</sup>	۲/۰۲ <sup>e</sup>	۸۰	۱۰۰	۷
۲۶/۶ <sup>a</sup>	۷/۵۶ <sup>g</sup>	۵۱/۵ <sup>e</sup>	۷۶/۰ <sup>d</sup>	۰/۶۴ <sup>g</sup>	۱/۷۵ <sup>f</sup>	۱۶۰	۱۰۰	۸
۲۸/۱ <sup>a</sup>	۵/۹۷ <sup>h</sup>	۴۷/۲ <sup>f</sup>	۷۶/۱ <sup>d</sup>	۰/۶۳ <sup>g</sup>	۱/۵۲ <sup>g</sup>	۲۴۰	۱۰۰	۹
-	۱۳/۰ <sup>b</sup>	۵۵/۶ <sup>c</sup>	۷۷/۰ <sup>de</sup>	۱/۶۰ <sup>a</sup>	۲/۷۰ <sup>a</sup>			برگ خام
۱۲/۳ <sup>f</sup>	۱۳/۸ <sup>a</sup>	۶۵/۰ <sup>a</sup>	۸۸/۸ <sup>a</sup>	۱/۴۳ <sup>b</sup>	۲/۴۲ <sup>bc</sup>			برگ شسته شده
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱			P-value
۰/۶۸	۰/۲۸	۱/۰۲	۱/۲۳	۰/۰۴	۰/۰۶			SEM
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱			اثر زمان
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱			اثر دما
۰/۰۰۹	۰/۱۵	۰/۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱			اثر متقابل دما و زمان

\* - دما درجه سانتی‌گراد و زمان به دقیقه، SEM خطای استاندارد میانگین‌ها، NDF دیواره سلولی، ADF دیواره سلولی به‌غیر از همی‌سلولز و ADL لیگنین. a-h - در هر ستون، تفاوت میانگین‌های با حروف متفاوت معنی‌دار است ( $P < 0.01$ ).

سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه و ۵/۹۷ درصد در برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه برای ۲۴۰ دقیقه کاهش یافت (جدول ۱). دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای پایین‌تر، در زمان کمتر نیز، سبب حذف لیگنین شد و شاید

درصد لیگنین تحت اثر دما و زمان فرآوری قرار گرفت و با افزایش دما و زمان در فرآوری، کاهش یافت ( $P < 0.01$ )، به‌طوری‌که لیگنین از ۱۳/۰ درصد در برگ خام به ۱۱/۲ درصد در برگ فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

افزایش می‌یابد که می‌تواند دلیلی بر افزایش لیگنین در فرآوری‌های خشک یا با رطوبت کم باشد [۱۱].

افزایش دما و زمان فرآوری، کاهش پروتئین و چربی خام را موجب گردید ( $P < 0/01$ ). اثر متقابل دما و زمان به‌طور معنی‌داری محتوای پروتئین خام را تحت تأثیر قرار داد ( $P < 0/01$ ). کاهش پروتئین و چربی خام از پیامدهای منفی فرآوری با آهک است [۳]. هر چند به دلیل ماهیت فیبری و کم بودن میزان چربی و پروتئین این توده‌ها، به این جنبه فرآوری توجه کمتری می‌شود، ولی در فرآوری توده‌های لیگنوسلولزی با درصد چربی و پروتئین زیاد باید به این جنبه منفی فرآوری توجه داشت.

اسیدیته (pH) پایان فرآوری با افزایش دما و زمان فرآوری کاهش یافت ( $P < 0/01$ ). بیشترین و کمترین میزان pH پایان فرآوری به ترتیب در تیمارهای با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ دقیقه و تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه مشاهده گردید. اسیدیته پایان فرآوری بازتابی از تبادلات شیمیایی آهک در فرآوری است، به‌طوری‌که کاهش pH نشان‌دهنده مصرف بیشتر آهک و نیز تأثیرگذاری بیشتر آن در فرآوری است [۱۰]. در آزمایش حاضر، با کاهش pH پایان فرآوری، درصد بیشتری از لیگنین حذف شد که نشان‌دهنده مصرف بیشتر آهک در فرآوری می‌باشد. از دلایل دیگر کاهش pH در پایان فرآوری، آزاد شدن ترکیبات اسیدی نظیر استیک، فرمیک و لاکتیک در نتیجه شکستن همی سلولز می‌باشد [۱۴]. با افزایش شدت فرآوری،  $H^+$  بیشتری از ترکیبات اسیدی حاصل از شکستن همی سلولز به دست می‌آید که سبب خنثی‌سازی  $OH^-$  حاصل از آهک شده و در نتیجه pH کاهش می‌یابد. مطابق این فرضیه، در گزارشی با افزایش شدت فرآوری، گروه‌های تفکیک شده بیشتری از همی سلولز و لیگنین نظیر کربوکسیل، متوکسی و یون هیدروژن در شیرابه فرآوری مشاهده شده است [۲۱].

شستن برگ خام سبب کاهش خاکستر شد، به‌طوری‌که

بتوان نتیجه‌گیری کرد که افزایش دما نسبت به زمان فرآوری، عامل مهم‌تری در حذف لیگنین در فرآوری با آهک باشد. کاهش درصد لیگنین در دیگر تحقیقات فرآوری با آهک گزارش شده است [۳]. هنگام فرآوری پسماند چوبی درخت جاتروفا با آهک برای حذف ۶۰ درصد لیگنین در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به ۱۲۰ دقیقه زمان نیاز است، درحالی‌که افزایش دما به ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، زمان مورد نیاز را به ۶۵ دقیقه کاهش می‌دهد [۱۵]. در فرآوری یک گرم ماده آلی باگاس نیشکر با ۰/۳ گرم آهک، در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۵۰ دقیقه، ۶۲ درصد کاهش لیگنین گزارش شد [۶]. در دمای بالا با افزایش حلالیت آهک، pH محیط افزایش می‌یابد و گونه‌های فعال  $OH^-$  بیشتری تولید می‌شوند که با حمله به حلقه‌های فنلی لیگنین سبب باز شدن آنها و در نتیجه افزایش نرخ لیگنین‌زدایی می‌شوند [۱۳]. در واقع آهک در دمای بالا به تولید رادیکال‌های آزاد می‌انجامد که میل واکنش‌پذیری بالایی دارند و با وارد کردن گروه‌های هیدروفیلک به ساختار لیگنین، پیوندهای درونی لیگنین را می‌شکنند و لیگنین آزاد می‌شود [۲۶].

سطح لیگنین دارای جایگاه اسیدی از نوع کربوکسیلیک و فنولیک است [۱۹]. جایگاه فنولیک در فرآوری با آهک بیشتر از جایگاه کربوکسیلیک دستخوش تغییرات می‌شود و این احتمالاً به دلیل جذب شدن کلسیم در این جایگاه و از هم پاشیدن لیگنین است [۱۰]. از طرف دیگر، افزایش دما سبب افزایش حلالیت آهک، افزایش اسیدیته و مصرف بیشتر آهک در پایان فرآوری می‌شود که به حذف بیشتر لیگنین منجر شده است [۷]. در تحقیقی با فرآوری باگاس نیشکر با فشار بخار آب، افزایش لیگنین گزارش شد [۲۷]. در شرایط دمایی بالا و عدم وجود رطوبت یا رطوبت پایین، فرآورده‌های حاصل از تجزیه قندها، به پلیمرهای شبیه لیگنین تبدیل می‌شوند و محتوای ظاهری لیگنین

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

حذف آهک، سبب اتلاف مواد محلول و عناصر می شود که کاهش بازده فرآوری را در پی خواهد داشت [۳]. در تحقیق حاضر، در شیوه جدیدی با دمیدن دی اکسید کربن به درون راکتور فرآوری کننده، آهک به صورت کربنات کلسیم جامد رسوب داده شد و بازیافت گردید که در نتیجه می توان از آن در فرآوری های آینده نیز استفاده نمود. از دلایل زیاد بودن درصد خاکستر با کاهش شدت فرآوری می توان به افزایش کلسیم توده اشاره کرد، به طوری که در شدت کم فرآوری، کلسیم بیشتری در توده وجود داشت (جدول ۲). موافق با این یافته، در فرآوری چندین پسماند کشاورزی با آهک، با افزایش میزان دما و زمان، درصد خاکستر و کلسیم در نمونه های فرآوری شده کاهش یافت، ولی نسبت به نمونه خام بیشتر بود [۹].

برگ خام ۷/۹۳ و برگ شسته شده ۵/۷۴ درصد خاکستر داشت ( $P < 0/01$ ). شسته شدن عناصر دلیل اصلی کاهش درصد خاکستر برگ می باشد. با افزایش دما و زمان فرآوری درصد خاکستر کاهش یافت، اما به دلیل یکنواخت نبودن میزان کاهش در شرایط مختلف زمانی و دمایی، اثر متقابل دما و زمان نیز معنی دار شد ( $P < 0/01$ ). نمونه های فرآوری شده درصد خاکستر بیشتری نسبت به برگ خام داشتند. این افزایش درصد خاکستر به دلیل باقی ماندن مقداری از آهک در فرآوری است. باید در نظر داشت که به ازای هر گرم ماده آلی برگ، ۰/۳ گرم آهک در فرآوری استفاده شده و با توجه با اینکه ۵۲ درصد آهک را کلسیم تشکیل می دهد، در نتیجه باید حدود ۱۵ درصد میزان خاکستر افزایش یابد. رایج ترین راه برای حذف آهک در پایان فرآوری، شستن توده است [۳]. شستن توده در کنار

جدول ۲. pH پایان فرآوری، درصد خاکستر و برخی عناصر برگ فرآوری شده با آهک

تیما	دما*	زمان*	pH	خاکستر	کلسیم	منیزیم	پتاسیم
۱	۴۰	۸۰	۱۲/۲ <sup>b</sup>	۸/۹ <sup>a</sup>	۰/۹۴ <sup>a</sup>	۰/۲۱ <sup>b</sup>	۰/۱۰ <sup>b</sup>
۲	۴۰	۱۶۰	۱۲/۰ <sup>c</sup>	۸/۶ <sup>bc</sup>	۰/۸۶ <sup>bc</sup>	۰/۱۷ <sup>bc</sup>	۰/۰۸ <sup>bc</sup>
۳	۴۰	۲۴۰	۱۱/۸ <sup>bcd</sup>	۸/۳ <sup>c</sup>	۰/۸۴ <sup>bc</sup>	۰/۱۲ <sup>bc</sup>	۰/۰۶ <sup>de</sup>
۴	۸۰	۸۰	۱۱/۹ <sup>bc</sup>	۸/۷ <sup>bc</sup>	۰/۸۴ <sup>ab</sup>	۰/۲۱ <sup>a</sup>	۰/۰۹ <sup>ab</sup>
۵	۸۰	۱۶۰	۱۱/۷ <sup>cd</sup>	۸/۵ <sup>bc</sup>	۰/۷۹ <sup>cd</sup>	۰/۱۱ <sup>c</sup>	۰/۰۷ <sup>cd</sup>
۶	۸۰	۲۴۰	۱۱/۷ <sup>de</sup>	۸/۵ <sup>bc</sup>	۰/۶۷ <sup>e</sup>	۰/۱۱ <sup>c</sup>	۰/۰۵ <sup>e</sup>
۷	۱۰۰	۸۰	۱۱/۷ <sup>de</sup>	۹/۰ <sup>b</sup>	۰/۷۴ <sup>de</sup>	۰/۱۵ <sup>abc</sup>	۰/۰۸ <sup>bc</sup>
۸	۱۰۰	۱۶۰	۱۱/۵ <sup>ef</sup>	۸/۶ <sup>bc</sup>	۰/۷۰ <sup>e</sup>	۰/۱۰ <sup>c</sup>	۰/۰۵ <sup>e</sup>
۹	۱۰۰	۲۴۰	۱۱/۴ <sup>f</sup>	۸/۳ <sup>c</sup>	۰/۶۷ <sup>e</sup>	۰/۱۲ <sup>bc</sup>	۰/۰۵ <sup>e</sup>
			-	۷/۹ <sup>d</sup>	۰/۵۸ <sup>f</sup>	۰/۳۲ <sup>a</sup>	۰/۵۸ <sup>a</sup>
			-	۵/۷ <sup>e</sup>	۰/۳۵ <sup>g</sup>	۰/۱۶ <sup>bc</sup>	۰/۱۲ <sup>b</sup>
			۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱
			۰/۰۰۷	۰/۱۸	۰/۰۰۳	۰/۰۲۰	۰/۰۰۶
			۰/۰۰۱	۰/۰۶۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
			۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱
			۰/۷۳	۰/۰۰۱۵	۰/۴۷	۰/۰۱۲	۰/۰۲۱

برگ خام  
برگ شسته شده

P-value

SEM

اثر زمان

اثر دما

اثر متقابل دما و زمان

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵



بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

تأثیر قابل توجهی بر این فرآیند داشت و تولید گاز در ۱۲ ساعت اولیه انکوباسیون در برگ فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ دقیقه و برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶۰ دقیقه به ترتیب ۲۶/۶ و ۴۱/۰ میلی‌لیتر به ازای یک گرم ماده خشک بود. در همین زمان، تولید گاز برگ فرآوری نشده با شسته شدن از ۱۸/۷ به ۱۲/۳ میلی‌لیتر به ازای یک گرم ماده خشک کاهش یافت ( $P < 0/01$ ). کاهش تولید گاز برگ شسته شده به علت شسته شدن مواد محلول است. تولید گاز در ۱۲ ساعت ابتدای انکوباسیون می‌تواند وابستگی زیادی به مواد محلول توده داشته باشد، زیرا آبیگری و تشکیل کلنی میکروبی برای تخمیر کربوهیدرات‌های ساختاری فاز تأخیری را موجب می‌گردد که اغلب بیش از ۶ ساعت است [۲۲]. افزایش تولید گاز ۱۲ ساعت اولیه انکوباسیون تیمارهای فرآوری شده را می‌توان به تولید کربوهیدرات‌های محلول از همی سلولز و حتی سلولز نسبت داد. از طرف دیگر، رسوب آهک در فرآوری پرهیز از شستن توده سبب حفظ بخش‌های محلول فرآوری شده است. در همین راستا، در فرآوری نوعی علف از گونه گندمیان که ساقه چوبی دارد با آهک، ۶۸ درصد همی سلولز در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد برای ۷۵ دقیقه محلول شد [۲۵]. فرآوری علف داکوتا در زمان‌ها و دماهای مختلف با آهک نشان داد که با افزایش شدت فرآوری مقدار بیشتری از همی سلولز به قندهای محلول تبدیل گردید [۸]. افزایش قندهای محلول با افزایش شدت فرآوری را می‌توان توجهی برای افزایش تولید گاز در این تیمارها دانست. با این حال، افزایش شدت فرآوری سبب تخریب حرارتی قندها و تبدیل آنها به ترکیبات شبه لیگنینی و فورفورال می‌شود [۲۱].

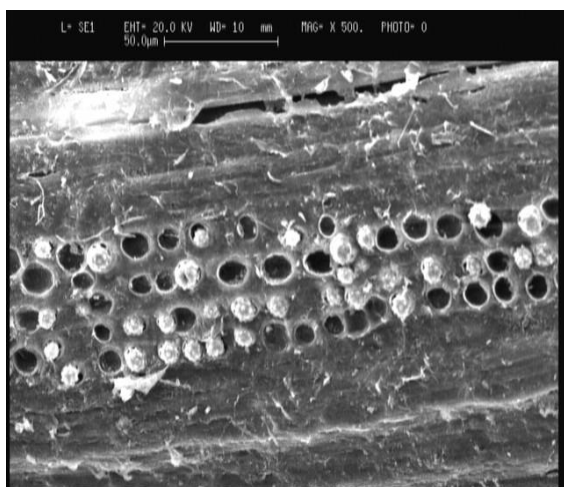
درصد کلسیم با افزایش دما و زمان فرآوری کاهش یافت ( $P < 0/01$ )، با این حال کلیه نمونه‌های فرآوری شده درصد کلسیم بیشتری نسبت به برگ خام داشتند. از دلایل احتمالی کاهش میزان کلسیم با افزایش شدت فرآوری، استفاده بیشتر آن در تبادلات شیمیایی و کاهش میزان آهک در فرآوری است [۱۳]. آهک یون کلسیم به توده اضافه می‌کند و سبب افزایش کلسیم تیمارهای فرآوری نسبت به برگ خام شده است. دمیدن دی‌اکسید کربن به راکتور فرآوری برای رسوب آهک به کربنات کلسیم، سبب بازیافت آهک می‌گردد، اما میزانی از کربنات کلسیم در توده باقی مانده و سبب افزایش کلسیم توده شده است (جدول ۲). مطابق با آزمایش حاضر در تحقیق دیگری، با افزایش شدت فرآوری، درصد کلسیم کاهش نشان داد [۳]. کلسیم به آبشویی حساس است و برگ شسته شده کمترین میزان کلسیم را داشت. از جمله مهمترین مزایای فرآوری مرطوب با آهک، قابل بازیافت بودن آهک در فرآوری است که در فرآوری خشک این امر امکان‌پذیر نیست [۹]. فرآوری‌های خشک همراه با مواد قلیایی سبب باقی ماندن این ترکیبات در بافت توده فرآوری شده و با هیپوتونیک نمودن محیط شکمبه به دلیل خاصیت جذب آب کلسیم و افزایش نرخ عبور مواد از شکمبه موجب کاهش قابلیت هضم می‌گردند [۲۲]. منیزیم و پتاسیم برگ شسته شده نسبت به برگ خام کمتر بود ( $P < 0/01$ ) و پتاسیم بیشترین حساسیت را به آبشویی داشت. پتاسیم در برگ خام ۰/۵۸ و در برگ شسته شده ۰/۱۲ درصد بود. اثر دما، زمان و اثر متقابل دما و زمان بر درصد منیزیم و پتاسیم معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). با افزایش شدت فرآوری درصد این دو عنصر کاهش یافت و به کمترین میزان خود در شدیدترین شرایط فرآوری رسید.

اثر دما، زمان و اثر متقابل دما و زمان بر تولید گاز ۱۲ ساعت اولیه انکوباسیون معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). فرآوری

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

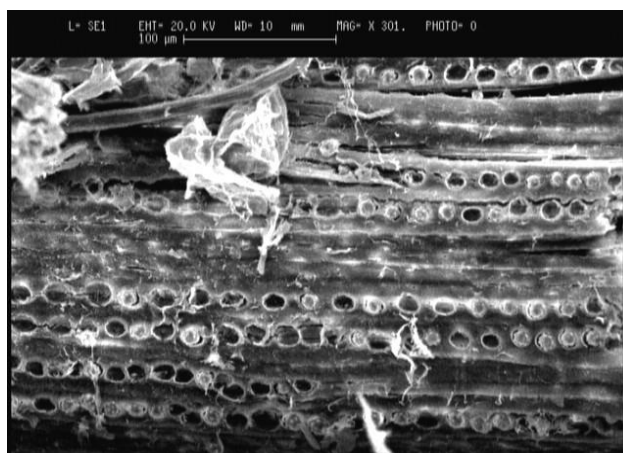
عباس رجایی راد، محسن ساری، محمد جواد ضمیری، مرتضی چاجی و سمیه سالاری



برگ فرآوری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد برای ۸۰ دقیقه



برگ خام



برگ فرآوری شده در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد برای ۲۴۰ دقیقه

شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی برگ خام و فرآوری شده با آهک

با افزایش دما و زمان فرآوری، افزایش تولید گاز تا ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون مشاهده شد ( $P < 0/01$ ). به دلیل متفاوت بودن شدت اثرگذاری دما در زمان‌های مختلف، اثر متقابل آنها نیز معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). بیشترین تولید گاز تا ۲۴ ساعت انکوباسیون در تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۶۰ دقیقه (۱۰۱/۴ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک) دیده شد و اختلاف مشاهده شده نسبت به سایر تیمارها به جز تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه معنی‌دار بود ( $P < 0/01$ ). تولید گاز در ۷۲ ساعت انکوباسیون در تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴۰ دقیقه و برگ خام به ترتیب ۱۸۹/۸ و ۷۶/۲ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک بود. فرآوری حرارتی در مجاورت آهک سبب حذف لیگنین، گروه‌های استیل‌همی سلولز و هیدرولیز همی سلولز شد که بهره‌وری استفاده از سلولز را نیز افزایش داد [۱۶]. این عوامل می‌توانند دسترسی آنزیم‌های میکروبی به بخش‌های قابل

تولیدات دامی

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

استیل‌اسیون همی سلولز عاملی اثرگذار بر راندمان هیدرولیز آنزیمی است، زیرا گروه‌های استیل به ماتریکس همی سلولز چسبیده و اثر بازدارندگی بر تجزیه این پلی ساکارید دارند [۱۷]. حذف گروه‌های استیل همی سلولز در دامنه‌های گوناگونی از زمان و دما در فرآوری با آهک گزارش شده است [۱۳]. به‌طور کلی، افزایش قابلیت تولید گاز در فرآوری را می‌توان به افزایش دسترسی میکروارگانیزم‌ها به سلولز و همی سلولز مرتبط دانست.

قابلیت هضم ماده آلی تحت تأثیر دما و زمان فرآوری به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/01$ ). قابلیت هضم ماده آلی در تیمار فرآوری شده در ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای ۸۰ و ۱۶۰ دقیقه به ترتیب ۲۶/۶ و ۳۰/۷ درصد بود ( $P < 0/01$ ). بیشترین قابلیت هضم ماده آلی در تیمار ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد برای ۱۶۰ و ۲۴۰ دقیقه (به ترتیب ۳۶/۰ و ۳۶/۴ درصد) مشاهده شد و در برگ خام و برگ شسته شده به ترتیب ۱۹/۶ و ۱۶/۵ درصد بود. محدود پژوهش‌های پیشین فرآوری با آهک در حوزه علوم دامی نیز افزایش قابلیت هضم ماده آلی برگ خرما فرآوری شده را گزارش نموده‌اند [۳]. قابلیت هضم درون‌کیسه‌ای ماده خشک باگاس نیشکر و کاه و کلش تنباکو فرآوری شده با آهک به ترتیب از ۳۰/۸ به ۵۲/۷ و نیز از ۳۴/۴ به ۵۷/۹ درصد افزایش یافت [۹]. افزایش رطوبت و دما در برگ خرما فرآوری شده با فشار بخار، سبب افزایش قابلیت هضم درون‌کیسه‌ای آن شد [۱]. همچنین با افزایش دما در فرآوری باگاس نیشکر با آهک، افزایش قابلیت هضم ماده خشک مشاهده گردید [۵]. کاهش لیگنین با افزایش دما و زمان فرآوری سطح در دسترس بیشتری را برای فعالیت آنزیمی میکروبی مهیا کرده است که سبب افزایش آگیری و کلنی‌سازی میکروبی شده و در نتیجه، قابلیت هضم افزایش می‌یابد. منافذ در دسترس [۱۷] و نوع آرایش پلی ساکارید از عوامل دیگر تأثیرگذار در هضم

تخمیر توده را افزایش داده و تخمیر بهتر و در نتیجه افزایش تولید گاز را در پی داشته باشند. عکس‌های میکروسکوپ الکترونی به خوبی این مفهوم را مورد تأیید قرار می‌دهند، به طوری که با افزایش شدت فرآوری بر تعداد و اندازه خلل و فرج برگ اضافه شد (شکل ۱). در نتیجه امکان اتصال و کلنی‌سازی میکروبی افزایش می‌یابد. با افزایش شدت فرآوری درصد بیشتری از لیگنین حذف گردید و احتمالاً این عامل اصلی افزایش تولید گاز با افزایش شدت فرآوری است. مطابق با آزمایش حاضر، در یک تحقیق با افزایش دما و زمان فرآوری برگ خرما با آهک، کاهش درصد لیگنین و افزایش تولید گاز گزارش شد [۳]. سرشاخه خرما در دامنه متفاوت زمانی و رطوبتی با فشار بخار فرآوری شد و تولید گاز با افزایش شدت فرآوری افزایش داشت [۱]. همچنین، افزایش ۴۵ درصدی تولید گاز کاه برنج فرآوری شده با فشار بخار نسبت به نمونه خام مشاهده شد [۱۶].

اگرچه یک روند مشخص در قابلیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر مشاهده نشد، اما این شاخص تحت تأثیر دما، زمان و اثر متقابل دما و زمان فرآوری قرار گرفت ( $P < 0/01$ ). در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش زمان، قابلیت تولید گاز افزایش و به بیشترین میزان در زمان ۲۴۰ دقیقه (۱۰۰/۲ میلی‌لیتر در ساعت) رسید. قابلیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر برگ خام ۳۴/۸ میلی‌لیتر در ساعت بود و کلیه تیمارهای فرآوری شده قابلیت تولید گاز بیشتری نسبت به برگ خام برخوردار بودند ( $P < 0/01$ ). افزایش قابلیت تولید گاز خوراک‌های فیبری به علت افزایش تولید گاز در زمان‌های پایانی انکوباسیون نیز نشان داده شده است [۱۶]. در همین راستا، افزایش قابلیت تولید گاز برگ خرما فرآوری شده با بخار آب تحت فشار گزارش شد [۱۲]. حذف لیگنین و پیوندهای آن با همی سلولز و سلولز با افزایش قابلیت هضم برگ فرآوری شده می‌تواند قابلیت تولید گاز را افزایش دهد. درجه

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

عباس رجایی راد، محسن ساری، محمد جواد ضمیری، مرتضی چاجی و سمیه سالاری

دیواره سلولی است [۱۹]. با افزایش دما و زمان فرآوری، همی سلولز در فرآوری، سبب افزایش سطح دسترس برای منافذ در دسترس میکروبی و بی‌نظمی دیواره سلولی افزایش یافت (شکل ۱). افزایش بی‌نظمی سلولز و

جدول ۳. اثر فرآوری با آهک بر برخی فرآیندهای تولید گاز برگ خرما

تولید گاز تجمعی در ساعت‌های مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک)					B	OMD	زمان *	دما *	تیمار
۷۲	۴۸	۲۴	۱۲						
۱۲۸/۶ <sup>e</sup>	۹۴/۳ <sup>f</sup>	۶۶/۹ <sup>e</sup>	۲۶/۶ <sup>c</sup>	۹۳/۵ <sup>b</sup>	۲۶/۵ <sup>f</sup>	۸۰	۴۰	۱	
۱۳۸/۶ <sup>de</sup>	۱۰۶/۶ <sup>de</sup>	۸۲/۸ <sup>c</sup>	۲۹/۲ <sup>bc</sup>	۸۱/۱ <sup>f</sup>	۳۰/۷ <sup>d</sup>	۱۶۰	۴۰	۲	
۱۵۵/۷ <sup>c</sup>	۱۲۱/۵ <sup>c</sup>	۹۵/۱ <sup>b</sup>	۳۸/۶ <sup>a</sup>	۹۰/۸ <sup>bc</sup>	۳۲/۷ <sup>c</sup>	۲۴۰	۴۰	۳	
۱۳۲/۸ <sup>e</sup>	۱۰۲/۸ <sup>e</sup>	۷۲/۹ <sup>d</sup>	۲۷/۲ <sup>c</sup>	۸۸/۸ <sup>cd</sup>	۲۹/۰ <sup>e</sup>	۸۰	۸۰	۴	
۱۵۹/۰ <sup>c</sup>	۱۱۰/۱ <sup>d</sup>	۹۴/۴ <sup>b</sup>	۳۳/۵ <sup>b</sup>	۸۲/۲ <sup>ef</sup>	۳۲/۸ <sup>c</sup>	۱۶۰	۸۰	۵	
۱۸۰/۰ <sup>ab</sup>	۱۲۲/۲ <sup>c</sup>	۱۰۱/۷ <sup>a</sup>	۴۰/۵ <sup>a</sup>	۸۵/۵ <sup>de</sup>	۳۴/۲ <sup>b</sup>	۲۴۰	۸۰	۶	
۱۴۴/۳ <sup>d</sup>	۱۲۹/۱ <sup>b</sup>	۸۲/۸ <sup>c</sup>	۴۰/۲ <sup>۵a</sup>	۶۳/۳ <sup>g</sup>	۳۰/۷ <sup>d</sup>	۸۰	۱۰۰	۷	
۱۷۵/۶ <sup>b</sup>	۱۵۱/۹ <sup>a</sup>	۱۰۱/۴ <sup>a</sup>	۴۱/۰ <sup>a</sup>	۹۱/۳ <sup>bc</sup>	۳۶/۰ <sup>a</sup>	۱۶۰	۱۰۰	۸	
۱۸۹/۸ <sup>a</sup>	۱۵۶/۵ <sup>a</sup>	۱۰۰/۳ <sup>a</sup>	۳۷/۹ <sup>a</sup>	۱۰۰/۲ <sup>a</sup>	۳۶/۴ <sup>a</sup>	۲۴۰	۱۰۰	۹	
۷۶/۲ <sup>f</sup>	۵۰/۱ <sup>g</sup>	۳۵/۱ <sup>f</sup>	۱۸/۷ <sup>d</sup>	۳۴/۸ <sup>h</sup>	۱۹/۶ <sup>g</sup>			برگ خام	
۶۷/۵ <sup>g</sup>	۴۶/۷ <sup>g</sup>	۲۳/۷ <sup>g</sup>	۱۲/۳ <sup>e</sup>	۳۷/۳ <sup>h</sup>	۱۶/۵ <sup>h</sup>			برگ شسته شده	
۰/۰۰۱	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲			P-value	
۶/۶۸	۷/۷۲	۵/۶۳	۲/۵۴	۸/۳۶	۱/۱۶			SEM	
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱			اثر زمان	
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱			اثر دما	
۰/۰۰۳	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۰۸	۰/۰۰۱	۰/۲۳			اثر متقابل دما و زمان	

\* دما درجه سانتی‌گراد و زمان به دقیقه، SEM خطای استاندارد میانگین‌ها، OMD درصد قابلیت هضم ماده آلی در ۴۸ ساعت انکوباسیون و B قابلیت تولید گاز از بخش قابل تخمیر (میلی‌لیتر)  
a-h - در هر ستون، تفاوت میانگین‌های با حروف متفاوت معنی‌دار است (P<۰/۰۱).

تصاویر میکروسکوپ الکترونی برگ خام و فرآوری شده در کمینه و بیشینه شرایط فرآوری در شکل ۱ نشان داده شده است. برگ خام‌داری سطح صاف، منظم، مستحکم و بدون تخلخل است، ولی با افزایش شدت فرآوری تغییراتی نظیر افزایش منافذ و ترک‌های شدید در برگ دیده شد. در فرآوری قلیایی باگاس نیشکر با سدیم

## تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

توصیه است. در مجموع باتوجه به ارزان، ایمن، قابل بازیافت و مؤثر بودن فرآوری با آهک، استفاده از این نوع فرآوری به همراه حرارت پیشنهاد می‌گردد. با این‌حال، بهبود مشاهده شده در ارزش تغذیه‌ای برگ خشک خرما برای تأیید نهایی و استفاده کاربردی نیازمند انجام آزمایشات مزرعه‌ای است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان و دانشگاه شیراز قدردانی می‌شود

### منابع

۱. توکلی م، زاهدی فر م، کرکودی ک و فرودی ف (۱۳۸۷) اثر دما، رطوبت و مدت زمان عمل‌آوری با بخار آب تحت فشار بر ترکیبات شیمیایی، تجزیه‌پذیری و تخمیرپذیری سرشاخه خرما. دانش کشاورزی ایران. ۴(۵): ۳۶۷-۳۵۷.

۲. رجایی‌رادع و ضمیری م ج (۱۳۹۲) ارزیابی مورفولوژی ساختاری برگ خرما فرآوری شده به کمک میکروسکوپ الکترونی (SEM). اولین گنگره فناوری‌های نوین در علوم دامی ایران، اصفهان. صص. ۷۱-۷۳.

3. Ahmadi F, Rajae Rad A, Holtzaple MT and Zamiri MJ (2013) Short-term oxidative lime pretreatment of palm pruning waste for use as animal feedstuff. Journal of the Science of Food and Agriculture. 93: 2061-2070.

4. AOAC (1998) Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 15<sup>th</sup> ed. Washington, DC.

5. Castro FB (1994) The use of steam treatment to upgrade lignocellulosic materials for animal feed. Ph.D. Thesis. University of Aberdeen, UK.

هیدروکسید برای تولید بیواتانول نیز افزایش پرسوراخی و تخلخل در نمونه فرآوری گزارش گردید [۱۹]. علت احتمالی این تغییرات را هیدرولیز همی سلولز و انحلال و حذف لیگنین گزارش شده است [۹ و ۱۹]. با افزایش شدت فرآوری درصد لیگنین کاهش یافت (جدول ۱) و در مقابل افزایش در میزان تخلخل و ازهم‌پاشیدگی ساختمان دیواره سلولی مشاهده گردید (شکل ۱). هر راهبرد تغذیه‌ای که چسبندگی میکروب‌های شکمبه را به ذرات خوراک افزایش دهد، سبب افزایش فعالیت تجزیه‌کنندگی فیبر می‌شود [۹]. آهک سبب کاهش لیگنین، کاهش گروه‌های استیل همی سلولز، کاهش کریستالینیتی سلولز و افزایش هیدرولیز همی سلولز می‌شود که مجموع این عوامل، جایگاه‌های چسبندگی بهتری جهت اتصال میکروارگانسیم‌ها ایجاد کرده و در نتیجه تجزیه فیبر با سرعت و بازدهی بالاتری انجام می‌گیرد. این یافته‌ها در تطابق با نتایج آزمایش تولید گاز است، زیرا با افزایش تخلخل و ترک‌های دیواره سلولی، تولید گاز و قابلیت هضم مطابق نتایج تحقیق حاضر افزایش یافت (جدول‌های ۳ و ۴). در دیگر پژوهش‌ها نیز متناسب با افزایش پرسوراخی نوعی گراس فرآوری شده با آهک، میزان و بازده هیدرولیز آنزیمی افزایش یافته است [۱۹ و ۲۵]. می‌توان این‌گونه جمع‌بندی نمود که افزایش پرسوراخی در بافت توده به دلیل حذف لیگنین و انحلال همی سلولز موجب اتصال بهتر توده میکروبی و دسترسی بهتر به پلی ساکاریدها می‌شود که در نتیجه تخمیر توده افزایش می‌یابد.

فرآوری با آهک به همراه حرارت لیگنین را کاهش داد و سبب افزایش گاز تولیدی و قابلیت هضم ماده آلی برگ خشک خرما شد و نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی مطابقت مطلوبی با داده‌های تولید گاز نشان داد. بنابراین، استفاده از آن برای ارزیابی اثرات فرآوری توده‌های لیگنوسلولزی، در کنار دیگر روش‌های آزمایشگاهی قابل

### تولیدات دامی

دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵

6. Chang VS, Nagwani M and Holtzaple MT (1998) Lime pretreatment of crop residues: bagasse and wheat straw. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 74: 135-159.
7. Duong TD, Hoang M and Nguyen KL (2005) Sorption of Na<sup>+</sup>, Ca<sup>2++</sup> ions from aqueous solution onto unbleached kraft fibers kinetics and equilibrium studies. *Colloid and Interface Science*. 287: 438-443.
8. Fals M, Sierra-Ramirez R and Holtzaple MT (2011) Oxidative lime pretreatment of Dacotah switchgrass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 165: 243-259.
9. Gandi J, Holtzaple MT, Ferrer A, Byers FM, Turner ND, Nagwani M and Chang S (1997) Lime treatment of agricultural residues to improve rumen digestibility. *Animal Feed Science and Technology*. 68: 195-211.
10. Guo X, Zhang S and Shan Xq (2008) Absorption of metal ions on lignin. *Journal of Hazardous Materials*. 151: 134-142.
11. Horton GM, Pate FM and Pitman WD (1991) The effect of steam pressure treatment, pelleting and ammoniation on the feeding value of sugarcane bagasse for cattle. *Canadian Journal of Animal Science*. 71: 79-86.
12. Karimi N, Nikkhah A, Zahedifar M, Fazaeli H and Chamani M (2008) Study of steam pressure and reaction time effect on chemical composition and degradability of palm date leaves. *Proceedings of British Society of Animal Science*. Pp 241.
13. Kim S and Holtzaple MT (2005) Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover. *Bioresource Technology*. 96: 1994-2006.
14. Lee J and Charles C (1969) Atomic Absorption Spectrophotometric and Ethylenediaminetetraacetate-Titration Methods for Calcium and Magnesium Determinations. *Journal of Dairy Science*. 52: 121-124.
15. Liang Y, Siddaramu T, Yesuf J and Sarkany N (2010) Fermentable sugar release from jatropha seed cakes following lime pretreatment and enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*. 101: 6417-6424.
16. Liu JX, Ørskov ER and Chen XB (1999) Optimization of steam treatment as a method for upgrading rice straw as feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 76: 345-357.
17. Lopez R, Poblano V, Licea-Claverie A, Avalos M, Alvarez-Castillo A and Castano V (2000) Alkaline surface modification of sugarcane bagasse. *Advanced Composite Materials*. 9: 99-108.
18. Menk KH and Stingass H (1988) Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*. 28: 6-55.
19. Rezende CA, De Lima MA, Maziero P, Ribeiro Azevedo E, Garcia W and Polikarpov I (2011) Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels*. 4: 1-19.
20. Takeuchi T and Suzuki M (1964) The determination of sodium, potassium, magnesium, manganese and calcium in cement by atomic-absorption spectrophotometry. *Talanta*. 11: 1391-1397.
21. Toussaint B, Excoffier G and Vignan MR (1991) Effect of steam explosion treatment on the chemical characteristics and enzymic hydrolysis of poplar cell wall components. *Animal Feed Science and Technology*. 32: 235-242.

بررسی تأثیر فرآوری با آهک بر ارزش تغذیه‌ای برگ خرما با روش‌های تولید گاز و میکروسکوپ الکترونی روبشی

22. Van Soest PJ (2006) Rice straw, the role of silica and treatments to improve quality. *Animal Feed Science and Technology*. 130: 137-171.
23. Van Soest PJ, Robertson JB and Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3588-3597.
24. Van Soest PJ, Wine R and Moore L (1966) Estimation of the true digestibility of forages by the in vitro digestion of cell walls. In the 10<sup>th</sup> International Grassland Congress, Helsinki, Finland.
25. Xu J and Cheng JJ (2011) Pretreatment of switch grass for sugar production with the combination of sodium hydroxide and lime. *Bioresource Technology*. 102: 3861-3868.
26. Xu J, Cheng JJ, Sharma-Shivappa RR and Burns JC (2010) Lime pretreatment of switchgrass at mild temperatures for ethanol production. *Bioresource Technology*. 101: 2900-2903.
27. Zahedifar M, Fazaeli H, Norouzian H and Abbasi A (2004) Effect of steam pressure and reaction time on chemical composition and bioavailability of sugarcane bagasse to rumen microbes. *Proceedings of BSAS Annual Meeting*. Pp 200.