Archi of SID

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان
جلد هفتم، شماره چهارم، ۱۳۹۸
http://ejrr.gau.ac.ir
۶۵-۷۵

تأثیر مخلوط آنزیمی بر فراسنجه‌های تخمیری برخی از محصولات فرعی کشاورزی در آزمایش تولید گاز

*سمانه قاسمی[۱]، مهدی بهگر[۲]، رضا ولی‌زاده[۳]، عباسعلی ناصریان[۳]

[۱] استادیار گروه کشاورزی، دانشکده فنی و کشاورزی شهریار، دانشگاه فنی و حرفه ای استان تهران، ایران، [۲] استادیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران، [۳] استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۱۰

چکیده

سابقه و هدف: افزایش جمعیت دامی منجر به کمبود منابع خوراکی و رقابت بین انسان و دام شده است. این مشکلات باعث افزایش توجه به استفاده از محصولات فرعی کشاورزی در تغذیه دام شده است. اما اکثر ضایعات کشاورزی به دلیل وجود ترکیبات لیگنوسلولزی و متابولیت‌های ثانویه ارزش غذایی اندکی دارند. در چنین شرایطی از روش‌های مختلف فرآوری و همچنین ترکیبات مختلف آنزیمی برای بهبود ارزش غذایی این محصولات استفاده می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین ترکیب شیمیایی محصولات فرعی کشاورزی شامل پوسته سویا حاوی دانه، پوسته سویا فاقد دانه، پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند و بررسی تاثیر یک مخلوط آنزیمی بر فراسنجه‌های تخمیری این محصولات فرعی در آزمایش تولید گاز است.

مواد و روش‌ها: در آزمایشگاه پوسته سویا به دو بخش تقسیم شد و برای تهیه پوسته سویای فاقد دانه از جریان باد در آزمایشگاه استفاده شد. مقدار پروتئین خام، دیواره سلولی، عصاره اتری، لیگنین و ماده آلی مواد خوراکی مورد بررسی با استفاده از روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. مقدار انرژی قابل متابولیسم، ماده آلی قابل هضم و اسیدهای چرب فرار با استفاده از معادلات مربوطه محاسبه شدند. برای انجام آزمایش تولید گاز ۲۰۰ میلی‌گرم از محصولات فرعی مورد مطالعه به همراه یک مخلوط آنزیمی در سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و به آن محیط کشت حاوی مایع شکمبه به میزان ۳۰ میلی‌لیتر اضافه شد و در حمام آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مخلوط آنزیمی با نام تجاری ناتوزیم به مقدار ۰/۰۵ درصد برای تیمار محصولات فرعی استفاده شد. مقدار تولید گاز در طی ساعات ۲، ٤، ۸، ۱۲، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ اندازه‌گیری شد. نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد.

یافته‌ها: بیشترین مقدار پروتئین خام در پوسته سویای دارای دانه (۲۰/٤۹ درصد ماده خشک) و بیشترین مقدار لیگنین در پوسته نرم پسته (۸/۵۵ درصد ماده خشک) مشاهده شد. پوسته نرم پسته و تفاله چغدر قند دارای مقدار کربوهیدرات‌های غیر الیافی بالایی در مقایسه با دو نوع پوسته سویای مورد بررسی بودند. آنزیم مورد استفاده بر اساس دز پیشنهادی تأثیری بر مقدار گاز تولیدی در ساعات مختلف، مقدار تولید گاز تجمعی و نرخ تولید گاز نداشت. همچنین آنزیم تأثیری بر مقدار ماده آلی قابل هضم، انرژی متابولیسمی و اسیدهای چرب فرار نداشت.

*نویسنده مسئول: samaneh_gh_59@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: پوسته پسته و تفاله چغندر قند مقادیر زیادی کربوهیدرات غیرفیبری دارند و پوسته سویا و تفاله چغندر قند مقادیر اندکی لیگنین دارند. استفاده از آنزیم در دز پیشنهادی تأثیری بر پارامترهای تخمیری، ماده آلی قابل هضم، انرژی متابولیسمی و کل اسیدهای چرب فرار نداشت.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، اسید چرب فرار، تولید گاز، محصولات فرعی کشاورزی

مقدمه

به دلیل افزایش جمعیت دامی کشور، نیاز به خوراک دام افزایش یافته است. در نتیجه مواد خوراکی علوفه‌ای و دانه‌ای تولیدی جوابگوی نیاز دامی کشور نیست. بر اساس پیش-بینی‌ها تا پایان برنامه پنجم توسعه تنها در بخش علوفه‌ای خوراک دام در خصوص علف یونجه و علوفه‌های مشابه ۳۰۰ هزار تن و در بخش علوفه‌های سیلویی ٤۰۰۰ هزار تن (بر حسب ۳۰ درصد ماده خشک) کمبود وجود دارد (۱). از طرف دیگر سالیانه مقادیر زیادی از ضایعات کشاورزی (۸۵۵۰ هزار تن) در کشور تولید می‌شود که بخش زیادی از این ضایعات دور ریخته می‌شوند یا سوزانده می‌شوند و تنها بخش اندکی از آنها در جیره دام مورد استفاده قرار می‌گیرد. متأسفانه بیشتر ضایعات کشاورزی به دلیل حضور مقادیر بالای ترکیبات لیگنوسلولزی و متابولیت‌های واسط دارای ارزش تغذیه‌ای پایین هستند. در نتیجه استفاده از این ترکیبات به مقدار زیاد در جیره با محدودیت کاهش رشد و عملکرد تولیدی دام‌ها همراه است. در چنین شرایطی راهکار مناسب جهت استفاده از این سرمایه بزرگ استفاده از روش‌های مختلف فرآوری به منظور افزایش ارزش غذایی این ترکیبات و یا استفاده از انواع مکمل‌های آنزیمی است.

در سال های اخیر از آنزیم‌ها به منظور بهبود ارزش غذایی خوراک در جیره نشخوارکنندگان و در نتیجه افزایش تولید و بهبود راندمان خوراک استفاده شده است (۵، ٦، ۲۵). سلولازها و همی سلولازها در بین ترکیبات تجاری آنزیمی متفاوت بوده و انواع مختلفی دارند و اختلافات در نسبت و فعالیت آنزیم‌ها بر روی راندمان هضم دیواره سلولی بوسیله این فرآورده‌ها تأثیر می‌گذارد. اغلب آنزیم‌های تجاری، علاوه بر آنزیم‌های تجزیه کننده فیبر، حاوی فعالیت‌های آنزیمی ثانویه از قبیل آمیلاز، پروتئاز و پکتیناز نیز می‌باشند (۹، ۱۱، ۱۷).

وانگ و همکاران (۲۰۰۱) کاهش مقدار الیاف خام محلول در شوینده خنثی و افزایش تجزیه پذیری ماده خشک جو را در اثر استفاده از مخلوط آنزیمی که فعالیت عمده آن زایلاناز بود گزارش کردند (۳۰). گیرالدو و همکاران (۲۰۰۸) نیز بطور مشابهی نشان دادند که استفاده از آنزیم زایلاناز و مخلوط سلولاز و زایلاناز منجر به افزایش قابلیت هضم الیاف خام محلول در شوینده خنثی در مخلوطی از گراس و کنسانتره شد (۱۵). والاس و همکاران (۲۰۰۱) افزایش نرخ تولید گاز را تحت تاثیر تیمارهای آنزیمی حاوی سلولاز در سیلاژ گراس و سیلاژ ذرت گزارش نمودند. هچنین همبستگی بالایی بین میزان تولید گاز و فعالیت آنزیمی مشاهده شد (۲۹).

در بیشتر مطالعات مورد استفاده اثر آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی بر هضم مواد خشبی و یا جیره کاملاً مخلوط مورد بررسی قرار گرفته است (۲، ۱٦، ۱۹). اطلاعات اندکی در خصوص استفاده از مکمل آنزیمی تجزیه کننده دیواره سلولی بر هضم

www.SID.ir

Archive of SID

محصولات فرعی کشاورزی دارای مقادیر بالای کربوهیدارت‌های غیرساختمانی و یا مقادیر اندک لیگنین وجود دارد. بنابراین هدف از این آزمایش بررسی تأثیر یک مخلوط آنزیمی بر فراسنجه‌های تخمیری پوسته سویای بدون دانه و حاوی دانه (دارای مقادیر اندک لیگنین)؛ پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند (دارای مقادیر بالای کربوهیدارت‌های غیرساختمانی و پکتین) به روش تولید گاز است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه شامل پوسته سویا، پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند بود. پوسته سویا از کارخانه روغنکشی "سویا بین گلستان" تهیه شد که محصول تهیه شده حاوی مقدار زیادی دانه بود. برای تهیه پوسته سویای فاقد دانه از جریان باد در آزمایشگاه استفاده شد تا پوسته از دانه جدا شود. برای تهیه پوسته نرم پسته، از ضایعات پسته پاک کنی وارینه اوحدی استفاده شد که برای این منظور برگ، ساقه و دیگر اجزاء از پوسته توسط دست در آزمایشگاه جدا شد. تفاله چقندر قند از یک واحد پرورش گاو شیری تهیه شد. نمونه ها پس از آماده سازی در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و سپس برای تعیین ترکیب شیمیایی و آزمایش تولید گاز با آسیاب مجهز به الک به قطر ۱ میلی‌متر آسیاب شدند.

میزان خاکستر نمونه‌ها به منظور تعیین میزان ماده آلی در دمای ۵۵۰ درجه و به مدت ٤ ساعت اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از دستگاه کلدال و چربی خام با استفاده از روش عصاره گیری توسط حلال انجام شد (۳). مقدار الیاف خام محلول در شوینده خنثی ، الیاف خام محلول در شوینده اسیدی مواد خوراکی بر اساس روش ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شد (۲۸).

آنزیم مورد استفاده با نام تجاری ناتوزیم، مخلوطی از آنزیم‌های فیتاز، بتاگلوکاناز، آلفا آمیلاز، سلولاز، لیپاز، پکتیناز، زایلاناز، پروتئاز، (جدول ۱) بود. آزمایش تولید گاز بر اساس روش منک و همکاران (۱۹۷۹) انجام شد (۲۱). مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از تیمارهای آزمایشی شامل پوسته پسته، پوسته پسته همراه با آنزیم، تفاله چغندر قند، تفاله چغندر قند همراه با آنزیم، پوسته سویا حاوی دانه، پوسته سویا حاوی دانه همراه با آنزیم، پوسته سویا فاقد دانه و پوسته سویا فاقد دانه به همراه آنزیم در سرنگ‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی لیتری ریخته شد و به آن محیط کشت حاوی مایع شکمبه به میزان ۳۰ میلی‌لیتر اضافه شد و در حمام آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد آنکوباسیون شدند. مقدار آنزیم مورد استفاده ۰/۰۵ درصد بود. مقدار تولید گاز در طی ساعات ۲، ٤، ٦، ۸، ۱٦، ۲٤، ٤۸، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ اندازه‌گیری شد. برای تهیه محیط کشت از مایع شکمبه صاف شده با پارچه متقال چهارلا استفاده شد. ترکیب نهایی محیط کشت (۵۰۰ میلی لیتر) به شرح زیر بود: آب مقطر ۲۳۷ میلی‌لیتر، نمک‌های پر نیاز ۱۱۸/۵ میلی‌لیتر، محلول بافر ۱۱۸/۵ میلی‌لیتر، نمک‌های کم نیاز ۰/۰٦ میلی‌لیتر، رزوزارین ۰/٦۱، محلول احیاء کننده ۲۵ میلی‌لیتر (شامل ۲۳/۸ میلی‌لیتر آب مقطر، ۱ میلی‌لیتر سود ۱ نرمال و ۱٤۲/۵ میلی‌گرم سولفید سدیم).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- آنزیم‌های موجود در مخلوط آنزیمی مورد استفاده و فعالیت آنها (واحد در کیلوگرم)

Table 1. Enzymes and their activity in the enzyme mixture (IU/kg)

آنزیم Enzyme	فعالیت Activity	آنزیم Enzyme	فعالیت Activity
فیتاز Phytase	≥500000	سلولاز Cellulase	≥6000000
پکتیناز Pectinase	≥70000	زایلاناز Xylanase	≥10000000
پروتئاز Protease	≥3000000	آلفا-آمیلاز Alfa-Amylase	≥700000
لیپاز Lipase	≥30000	بتا-گلوکاناز Beta-Glucanase	≥700000

همچنین ماده آلی قابل هضم (معادله ۱) و انرژی متابولیسمی (معادله ۲) بر اساس روش پیشنهادی منک و استینگاس (۱۹۸۸) و مقدار اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (معادله ۳) در هر سرنگ بر اساس معادله ارائه شده گتاچیو و همکاران (۲۰۰۲) به صورت زیر تخمین زده شد (١٤، ٢٢):

پروتئین خام ۰/۰۸۱۵ + تولید گاز ۰/۷۲۲۲۲ + ۲٤/۹۱ = (درصد) ماده آلی قابل هضم (معادله ۱)

^{۲}(پروتئین خام) ۰/۰۰۰۲۸۵۹ + پروتئین خام ۰/۰۰۵۷ + تولید گاز ۰/۱۳۵۷ + ۲/۲ = (MJ/kg DM) انرژی متابولیسمی (معادله ۲)

۰/۰۰٤۲۵- + گاز تولیدی ۰/۰۲۲۲= (میلی‌مول به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) اسیدهای چرب فرار (معادله ۳)

داده‌های حاصل از تولید گاز (میلی‌لیتر به ازاء ۰/۲ گرم ماده خشک) به منظور محاسبه ضرایب با استفاده از رویه NLIN در نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ (۲۰۰۱) براساس مدل زیر آنالیز شدند (٢٦).

$$GP=b\ (1-e^{-c\ (t)})$$

که در این معادله GP= حجم گاز تولیدی در زمان t، b= بخشی که در طول زمان گاز تولید می‌کند(کند تجزیه)، c= نرخ تولید گاز (در ساعت) از بخش b در خوراک‌های کند تخمیر و t=زمان انکوباسیون بر حسب ساعت بود.

در پایان داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ (۲۰۰۱) با استفاده از رویه آماری GLM با استفاده از مدل زیر و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد (٢٦).

$$Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$$

که: Y_{ij} = مشاهده، μ = میانگین کل مشاهدات، T_i= اثر تیمار i و e_{ij} = خطای تصادفی.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی محصولات فرعی مورد استفاده در جدول ۲ نشان داده شده است. ترکیب شیمیایی مواد خوراکی بسیار متغیر بود. پوسته سویای حاوی دانه در مقایسه با پوسته سویای فاقد دانه دارای مقادیر بالای پروتئین و چربی بود (به‌ترتیب ۲۰/٤۹ و ٦/۹۰ درصد ماده خشک) که دلیل آن حضور مقدار بالای دانه سویای شکسته شده در محصول بود.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: ترکیب شیمیایی محصولات فرعی مورد مطالعه (درصد در ماده خشک).

Table 2. Chemical composition of studied agricultural by-products (% of Dry Matter).

محصولات فرعی By-products	خاکستر Ash	لیگنین Lignin	دیواره سلولی فاقد همی‌سلولز ADF	دیواره سلولی NDF	عصاره اتری Ether extract	پروتیئن خام Crude protein	کربوهیدرات‌های فاقد الیاف [1]NFC
پوسته سویا حاوی دانه Soybean hull with bean	6.20	2.30	39.05	49.65	6.90	20.49	16.77
پوسته سویا فاقد دانه Bean free-Soybean hull	5.20	0.75	51.35	69.65	1.00	9.36	14.79
پوسته نرم پسته Pistachio hull	12.09	8.55	20.75	25.00	6.95	15.82	40.17
تفاله چغندر قند Sugar beet pulp	4.80	1.50	25.95	48.65	0.15	9.96	34.66

[1] NFC = ۱۰۰-(خاکستر+ چربی+پروتئین خام+NDF).

جدول ۳: مقدار تولید گاز تجمعی تیمارهای آزمایشی در ساعات مختلف انکوباسیون (میلی‌لیتر)

Table 3. Cumulative gas production of treatments in different times (ml)

محصولات فرعی By-products	ساعات انکوباسیون Incubation times								
	2	4	8	12	24	48	72	96	120
[1]پوسته پسته (Pistachio hull)	13.4	21.2	32.6	39.4	55.8	67.3	73.4	76.2	78.2
پوسته پسته +آنزیم Pistachio) (hull+enzyme	13.2	20.5	33.1	39.9	56.5	68.6	74.3	77.3	79.3
تفاله چغندر قند (Sugare beetpulp)	17.2	30.2	58.2	69.2	87.2	101.1	106.0	108.6	109.7
تفاله چغندر قند+ آنزیم Sugare beet) (enzyme+pulp	16.2	30.2	58.5	69.1	86.6	100.5	105.2	107.8	109.1
پوسته سویا فاقد دانه Bean-free Soybean) (hull	15.1	24.8	42.0	52.8	79.2	93.0	96.5	98.0	98.7
پوسته سویا فاقد دانه +انزیم Bean-free Soybean) (hull +enzyme	15.7	24.7	41.1	52.2	72.1	85.8	89.3	91.1	91.7
پوسته سویا حاوی دانه Soybean hull with) (bean	15.2	25.1	38.0	51.1	78.5	94.9	99.5	101.3	102.4
پوسته سویا حاوی دانه + آنزیم with beanSoybean) hull (+enzyme	16.3	24.3	39.9	52.2	24	97.6	102.2	104.5	105.7

[1]مقایسه میانگین ها بین هر فرآورده فرعی و همان فرآورده همراه با آنزیم به صورت جداگانه، صورت گرفته است.

[1]Mean comparison between each by product and by product containing enzyme has been done, separately.

www.SID.ir

Archive of SID

ترکیب شیمیایی هر دو نوع پوسته سویای مورد بررسی در محدوده گزارشات سایر محققین بود (۱۷). از دیگر خصوصیات مورد توجه پوسته سویا وجود مقادیر اندک لیگنین علی رغم وجود مقادیر بالای الیاف می‌باشد. پوسته نرم پسته در میان محصولات فرعی مورد مطالعه، پایین‌ترین مقادیر دیواره سلولی و بالاترین مقادیر خاکستر و کربوهیدارت‌های غیر الیافی و لیگنین (به ترتیب ۱۲/۰۹، ٤۰/۱۷ و ۸/۵۵ درصد ماده خشک) را داشت. بخشی از محتوای بالای کربوهیدرات غیر الیافی در پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند می‌تواند به دلیل مقادیر بالای پکتین در این دو محصول فرعی باشد (۱۹، ۲۳). ترکیب شیمیایی تفاله چغندر قند در محدوده گزارش شده در دیگر منابع بود (۲٤).

مقدار تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون در جدول ۳ و فراسنجه‌های تولید گاز در جدول ٤ نشان داده شده است. آنزیم تأثیری بر مقدار گاز تولیدی در ساعات مختلف انکوباسیون و همچنین فراسنجه‌های تخمیری در آزمایش تولید گاز نداشت.

جدول ٤: فراسنجه‌های تولید گاز تیمارهای مختلف

Table 4. Gas production parameters of different treatments

محصولات فرعی By-products	پارامترهای تولید گاز Gas production parameters	
	c (ml/h)	b (ml)
[1]پوسته پسته (Pistachio hull)	0.07	74.8
پوسته پسته+آنزیم (Pistachiohull+enzyme)	0.08	72.4
تفاله چغندر قند (Sugare beet pulp)	0.08	105.7
تفاله چغندر قند+ آنزیم (enzyme+Sugare beetpulp)	0.08	105.1
پوسته سویا فاقد دانه (Bean-free Soybean hull)	0.06	114.4
پوسته سویا فاقد دانه+آنزیم (Bean-free Soybean hull +enzyme)	0.07	89.9
پوسته سویاحاوی دانه (Soybean hull with bean)	0.06	104.5
پوسته سویا حاوی دانه+آنزیم (+enzyme Soybean hull with bean)	0.06	100.6

[1]مقایسه میانگین‌ها بین هر فرآورده فرعی و همان فرآورده همراه با آنزیم به صورت جداگانه، صورت گرفته است.

[1]Mean comparison between each by product and by product containing enzyme has been done, separately.

مقدار ماده آلی قابل هضم، انرژی متابولیسمی و اسیدهای چرب فرار در جدول شماره ۵ نشان داده شده است. مخلوط آنزیمی مورد استفاده تأثیری بر مقدار انرژی متابولیسمی، ماده آلی قابل هضم و اسیدهای چرب فرار نداشت. مطالعه‌ای در خصوص تاثیر آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی بر خصوصیات تخمیری محصولات فرعی کشاورزی مورد استفاده در آزمایش حاضر توسط نگارندگان یافت نشد. نتایج ضد و نقیضی در خصوص استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی بر هضم و تخمیر مواد خشبی و جیره گزارش شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵: ماده آلی قابل هضم (درصد)، انرژی متابولیسمی (MJ/kg DM) و اسیدهای چرب فرار (mmol/200 mg DM) در تیمارهای مختلف

Table 5. Gas production (ml), digestible organic matter (%), metabolisable energy (MJ/kg DM), volitle fatty acid (mmol/200 mg DM)

محصولات فرعی By-products	ماده آلی قابل هضم (Digestible organic matter)	انرژی متابولیسمی (Metabolisable energy)	اسیدهای چرب فرار (Volitle fatty acid)
پوسته پسته (pistachio hull)	66.5	9.9	1.73
پوسته پسته +آنزیم (pistachio hull+enzyme)	67.0	10.0	1.75
تفاله چغندر قند (sugare beet pulp)	88.7	14.1	2.4
تفاله چغندر قند+آنزیم sugarebeet) (enzyme+pulp	88.2	14.0	2.4
پوسته سویا فاقد دانه Bean-free Soybean) (hull	82.9	13.0	2.1
پوسته سویا فاقد دانه+انزیم Bean-free Soybean hull) (+enzyme	77.7	12.0	2.0
پوسته سویا حاوی دانه Soybean hull with) (bean	83.2	13.0	2.2
پوسته سویا حاوی دانه+آنزیم Soybean hull with bean) (+enzyme	85.0	13.4	2.3

[1] میانگین‌ها بین هر فرآورده فرعی و همان فرآورده همراه با آنزیم مقایسه شده است.

[1]Mean comparison between each by product and by product containing enzyme has been done, separately.

المراز و همکاران (۲۰۱۰) با انجام آزمایش تولید گاز بر روی جیره مخلوط بره‌های پرواری با دو سطح کم و زیاد (۳ و ٦ گرم در کیلوگرم) آنزیم تجزیه کننده دیواره سلولی، نشان دادند که آنزیم تأثیری بر میزان گاز تولیدی و مقدار کل اسیدهای چرب فرار تولیدی (در زمان ٤٨ ساعت) نداشت (۲). نتایج مشابهی توسط کلومباتو و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شد (۸). در تضاد با این گزارشات گیمدا و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که سطوح افزایشی آنزیم سلولاز و زایلاناز باعث افزایش تولید گاز مواد خشبی بی‌کیفیت و جیره کاملاً مخلوط می‌شود (۱۳).

جلیلوند و همکاران (۲۰۰۸) هنگامی که علف یونجه، سیلاژ ذرت و کاه گندم را با سطوح مختلف (۳ تا ۹ گرم در کیلوگرم) مخلوط آنزیمی مشابه با آزمایش حاضر (ناتوزیم) تیمار کردند نشان دادند که استفاده از آنزیم در کاه گندم باعث افزایش تولید گاز و کاهش فاز تاخیر شد (۱۸). افزایش مقدار و نرخ تولید گاز علف یونجه تیمار شده با آنزیم ناتوزیم توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (۱۲). نتایج مشابهی هم توسط سوجانی و همکاران (۲۰۱٦) گزارش شد (۲۷). این محققین نشان دادند که استفاده از آنزیم سلولاز، زایلاناز و یا مخلوط این دو به طور

www.SID.ir

Archive of SID

موثری مقدار تولید گاز را در گونه‌ای از گراس‌ها که دارای مقادیر بالایی از الیاف نامحلول در شوینده خنثی (۷۰ درصد ماده خشک) بود، افزایش داد. والاس و همکاران (۲۰۰۱) نیز افزایش نرخ تولید گاز را تحت تاثیر تیمارهای آنزیمی حاوی سلولاز در سیلاژ گراس و سیلاژ ذرت گزارش نمودند (۲۹).

یون و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که مقدار آنزیم مورد استفاده و فعالیت آن دو عامل مهم برای حصول بهبود در قابلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی و تولید گاز علف یونجه و سیلاژ ذرت می‌باشند (۱۰). همبستگی بالایی بین میزان تولید گاز و فعالیت آنزیمی گزارش شده است.

همچنین گزارش شده است که آنزیم سلولاز و زایلاناز دارای اثر همکوشی بر دیواره سلولی هستند. در آزمایشی مشخص شد استفاده از آنزیم سلولاز و زایلاناز و یا هر دو باعث افزایش تولید گاز و اسیدهای چرب فرار کاه برنج در آزمایش تولید گاز شد (۲۰). در این مطالعه مقدار اسید استیک و اسید بوتیریک به ترتیب تحت تاثیر استفاده از سلولاز و زایلاناز افزایش یافتند. نسبت بهینه سلولاز و زایلاناز برای تاثیر بر علف یونجه و سیلاژ ذرت بیشتر از ۰/٤ به ۱ گزارش شده است (۱۰).

در مطالعه حاضر آنزیم مورد استفاده دارای فعالیت و ترکیب مناسبی از آنزیم سلولاز و زایلاناز بود که با دیگر آنزیم‌های استفاده شده در مطالعات قبلی قابل مقایسه بود. در خصوص نسبت بین سلولاز و زایلاناز آنزیم مورد استفاده از آزمایش حاضر ۰/۵ به ۱ بود که در محدوده پیشنهاد شده برای فعالیت بهینه مخلوط آنزیمی می‌باشد (۱۰). از میان عوامل تاثیر گذار بر تاثیر آنزیم بر خصوصیات تخمیری مواد خوراکی مقدار کربوهیدرات‌های ساختمانی و غیر ساختمانی مواد خوراکی مورد مطالعه اهمیت بسزایی دارد. نتایج مطالعات نشان داده است که اثر آنزیم ناتوزیم بر علوفه خشبی‌تر به مراتب بیشتر از علوفه با الیاف کمتر است (۱۸). مکانیسم پیشنهادی می‌تواند شکسته شدن بخش‌هایی از بخش‌های ساختمانی ماده خوراکی و تولید قند محلول به عنوان سوبسترا برای میکروارگانیسم‌ها و همچنین افزایش اتصال باکتری‌ها به این بخش‌ها و در نتیجه افزایش تجزیه الیاف باشد (۷). این فرضیه می‌تواند تاثیر آنزیم بر مواد خشبی را که ترکیبات در دسترس کمتری برای میکروارگانیسم‌ها در اختیار قرار می‌دهند را توجیه کند.

در نتیجه در مطالعه حاضر عدم تأثیر مخلوط آنزیمی بر مواد خوراکی مورد بررسی به دلیل محتوای نسبتاً بالای کربوهیدارت‌های غیر ساختمانی به خصوص در پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند قابل توجیه است. علاوه بر این مقادیر بالایی از ترکیبات پکتینی در پوسته سویا (حدود ۸-٤ درصد ماده خشک) پوسته نرم پسته (۵/۷۵ درصد ماده خشک) و تفاله چغندر قند (۲۵ درصد ماده خشک) وجود دارد (٤، ۱۹، ۲۳) که به آسانی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه متابولیسم می‌شوند.

نتیجه‌گیری

از مواد خوراکی مورد مطالعه، پوسته نرم پسته و تفاله چغندر قند دارای مقادیر زیادی از کربوهیدرات‌های غیر الیافی و هر دو نوع پوسته سویا و تفاله چغندر قند دارای مقادیر اندکی از لیگنین بودند. در دز پیشنهادی شرکت تولید کننده اثری از مخلوط آنزیم بر پارامترهای تخمیری، ماده آلی قابل هضم، انرژی متابولیسمی و کل اسیدهای چرب فرار نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Agricultural Statistics. 2017. Ministry of Agricultural Jihad Department of Statistics and Information. (In Persian).
2. Almaraz, I., González, S. S., Pinos-Rodríguez, J. M. and Miranda, L. A. 2010. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on *in sacco* and *in vitro* degradation of diets and on growth performance of lambs. Italian Journal of Animal Science. 9: 2.
3. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1999. Official Method of Analysis. 16th ed Assoc. Office Anal. Chem.,Washington, DC.
4. Bayashi, M., Funane, K., Ueyama, H., Ohya, S., Tanaka, M. and Kato, Y. 1993. Sugar composition of beet pulp polysaccharides and their enzymatic hydrolysis. Bioscience. Biotechnology and Biochemistry. 57(6): 998-1000.
5. Beauchemin, K. A., Rode, L. M. and Sewalt, V. H. 1995. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. Canadian Journal of Animal Science. 75: 641-644.
6. Bowman, G. 2001. Digestion, ruminal pH, salivation, and feeding behaviour of lactating dairy cows fed a diet supplemented with fibrolytic enzymes. M. Sc. Thesis, Univ. of British Colombia. Vancouver. BC.
7. Colombatto, D., Mould, F. L., Bhat, M.K. and Owen, E. 2002. The effect of fibrolytic enzyme application on rate and extent of alfalfa stem fermentation, assessed *in vitro*. Proceeding of British Society of Animal Production. 209Pp.
8. Colombatto, D., Mould, F. L., Bhat, M. K. and Owen, E. 2003. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. A biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. Journal of Animal Feed Science and Technology. 107: 201-209.
9. Dong, Y., Bae, H. D., McAllister, T. A., Mathison, G. W. and Cheng, K. J. 1999. The effect of exogenous fibrolytic enzymes, a-bromoethanesulfonate and monensin on digestibility of grass hay and methane production in the Rusitec. Canadian Journal of Animal Science. 79: 491-498.
10. Eun, J. S., Beauchemin, K. A. and Schulze, H. 2007. Use of exogenous fibrolytic enzymes to enhance *in vitro* fermentation of alfalfa hay and corn silage. Journal of Dairy Science. 76: 3523-3535.
11. Feng, P., Hunt, C. W., Pritchard, G. T. and Julien, W. E. 1996. Effect of enzyme preparations on *in situ* and *in vitro* digestive characteristics of mature cool-season grass forage in beef steers. Journal of Animal Science. 74: 1349-1357.
12. Ghasemi, S., Naserian, A. A. and Valizadeh, R. 2007. Effect of a commercial enzyme blend on degradability and gas production of alfalfa hay and performance of lactating cows in the first stage of lactation. Agricultural Journal of Sciences and Technology. 20 (5):179-189. (In Persian).
13. Gemeda, B. S., Hassen, A. and Odongo, N.E. 2014. Effect of fibrolytic enzyme products at different levels on *in vitro* ruminal fermentation of low quality feeds and total mixed ration. Journal of Animal and Plant Sciences. 24(5): 1293-1302.
14. Getachew, G., Makkar, H. P. S. and Becker, K. 2002. Tropical browses: contents of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production. Journal of Agricultural Science. 139(3): 341-352.
15. Giraldo, L. A., Tejido, M. L., Ranilla, M. J. and Carro, M. D. 2008. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on *in vitro* ruminal fermentation of substrates with different forage: concentrate ratios. Journal of Animal Feed Science and Technology. 141: 306-325.
16. Hristov, A. N., Rode, L. M., Beauchemin, K. A. and Wuerfel, R. L. 1996. Effect of a commercial enzyme preparation on barley silage *in vitro* and *in sacco* dry matter degradability.

www.SID.ir

Archive of SID

Proceeding of the Western Section American Society of Animal Science. Rapid City. South Dakota. 47: 282-284.
17. Ipharraguerre, I. R. and Clark, J. H. 2003. Soyhulls as an Alternative Feed for Lactating Dairy Cows: A Review. Journal of Dairy Science. 86: 1052-1073.
18. Jalilvand, G., Odongo, N. E., López, S., Nase -rian, A., Valizadeh, R., Eftekhar Shahrodi, F., Kebreab E. and France, J. 2008. Effects of different levels of an enzyme mixture on *in vitro* gas production parameters of contrasting forages. Journal of Animal Feed Science and Technology. 146: 289-301.
19. Liu H.M. and Li, H. Y. 2017. Application and Conversion of Soybean Hulls. In: Kasai M, ed. Soybean - The Basis of Yield, Biomass and Productivity. In Tech. 111-132.
20. Mao, H. L., Wu, C. H., Wang, J. K. and Liu, J. X. 2013. Synergistic effect of Cellulase and Xylanase on *in vitro* rumen fermentation and microbial population with rice straw as substrate. Journal of Animal Nutrition and Feed Technology. 13: 478-488.
21. Menke K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. Journal of Animal Science. 93(1): 217-222.
22. Menke, K. H. and Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analyses and gas production using rumen fluid. Animal Research Development. 28(3): 7-55.
23. Mohammadi Moghadaam, T., Seyed, M. A. Razavi, Malekzadegan, F. and Shaker Ardekani, A. 2009. Chemical composition and rheological characterization of pistachio green hull's marmalade. Journal of Texture Studies. 40: 390-405.
24. National Research Council (NRC). 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academic Press, Washington, DC.
25. Rode, L. M., Yang, W. Z. and Beauchemin, K. A. 1999. Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. Journal of Dairy Science. 82: 2121-2126.
26. Statistical Analysis System. 2001. SAS/STAT User's Guide: Version 9. 1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
27. Sujani, S., Pathirana, I. N., Seresinhe, R.T. and Dassanayaka, K. B. 2016. *In vitro* effects of exogenous fibrolytic enzymes on rumen. fermentation of wild guinea grass (*Panicum maximum*). Iranian Journal of Applied Animal Science. 6(2): 303-308.
28. Van Soest, P. J., Robertson, J. B. and Lewis, B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74: 3583-3597.
29. Wallace, R. J., Wallace, A., McKain, N., Nsereko, V. L. and Hartnell, G. F. 2001. Influence of supplementary fibrolytic enzymes on the fermentation of corn and grass silages by mixed ruminal microorganis *in vitro*. Journal of Animal Science. 79: 1905-1916.
30. Wang, Y., McAllister, T. A., Rode, L. M., Beauchemin, K. A., Morgavi, D. P., Nsereko, V. L., Iwaasa, A. D. and Yang, W. 2001. Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec). British Journal of Nutrition. 85: 325-332.

www.SID.ir

Archive of SID

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Ruminant Research, Vol. 7(4), 2019
http://ejrr.gau.ac.ir

Effects of an enzyme mixture on *in vitro* digestibility of some agricultural by products

[*]S. Ghasemi[1], M. Behgar[2], R. Valizadeh[3], A.A. Naserian[3]
[1]Assistant Prof., Dept. of Agriculture, Faculty of shahryar, Tehran branch, Technical and Vocational University, Tehran, Iran, [2]Assistant Prof., Nuclear Science & Technology research institute, Karaj, Iran, [3]Professor, Dept. of Animal sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
Received: 08/06/2019; Accepted: 12/01/2019

Abstract

Background and objectives: Increasing of livestock population has resulted in shortage of feed sources and competition between humans and animals. These problems have led to increasing concern in using by-products in animal feeding. But, most by-products have a low nutritional value due to the presence of high concentrations of lignocellulosic compounds and intermediate metabolites. In such a situation, a good solution is to use different processing methods to increase the nutritional value of these compounds or to use commercial enzyme mixture in animal fed. The aim of this study was to determine chemical composition of some agricultural by-product and also to the test the effect of a commercial enzyme mixture on their *in vitro* fermentation characteristic using gas production technique.

Materials and methods: Soybean hull was provided from a soybean processing factory and pistachio hull and sugar beet pulp were provided from a local farm. In the laboratory soybean hull divided in to batch and one of them was under wind blowing separate soybean hull from cracked bean to produce bean-free soy hull. All samples were analyzed in duplicate for kjeldahl nitrogen, organic matter, neutral detergent fiber and acid detergent fiber. Gas production test was performed and metabolisable energy, digestible organic matter and volatile fatty acids were estimated. About 200 mg of each were incubated in 100 ml glass syringes and 30 ml of incubation liquid were added and were incubated in 39 °C water bath. The amount of enzyme was 0.05%. The gas production was measured in 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120 hours. The results were analyzed in completely randomized design.

Results: Greatest content of crude protein and lignin were measured in soybean hull (20.49% of Dry Matter) and pistachio hull (8.55 % of Dry matter), respectively. High amount of non fiber carbohydrate were noted in pistachio hull and sugar beet pulp. Enzyme had no effect on gas production in different hours, cumulative gas production, and the rate of gas production, organic matter digestibility, metabolisable energy and volatile fatty acids.

Conclusion: Pistachio hull and sugar beet pulp had a large amount of non-fibrous carbohydrates and both soybean hull and sugar beet pulp had a small amount of lignin. Applying enzyme in the recommended dose did not have any effect on the fermentation parameters, digestible organic matter, metabolisable energy and short chain fatty acids. For future studies, using higher doses of the enzyme mixture and different times of enzyme application can be suggested.

***Keywords*:** By products, Exogenous enzyme, Gas production, Volatile fatty acid.

[*]Corresponding author; samaneh_gh_59@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir