نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۲۰، پاییز ۱۳۹۷
ص‌ص: ۲۴۱~۲۵۲

اثر رنگ بروموکروزول گرین بر فعالیت‌های تخمیری میکروارگانیسم‌های شکمبه و حذف آن از آب با استفاده از خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم فرآوری شده

- **محسن کاظمی** (نویسنده مسئول)
استادیار گروه علوم دامی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام
- **الیاس ابراهیمی خرم‌آبادی**
استادیار گروه علوم دامی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام.
- **رضا ولی‌زاده**
استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
- **سمیه حیدری**
استادیار گروه شیمی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام
- **آمنه اسکندری تربقان**
مربی گروه مهندسی بهداشت محیط دانشکده علوم پزشکی تربت‌جام

تاریخ دریافت : آبان ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش : بهمن ۱۳۹۶
شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۳۳۲۶۳۲۳
Email: phd1388@gmail.com

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.116074.1559

چکیده

آزمایشی با هدف بررسی دو جاذب خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم فرآوری شده در حذف رنگ بروموکروزول گرین به‌عنوان یک منبع آلوده‌کنندهٔ آبی در یک محیط کشت تهیه شده از میکروارگانیسم‌های شکمبه و بزاق مصنوعی انجام شد. از بروموکروزول گرین در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام) همراه با بنتونیت سدیم یا خاکستر پوست خربزه هر کدام در سه سطح (۰، ٤ و ۸ میلی‌گرم) به‌صورت فاکتوریل ۳×۲×۳ و با پایهٔ کاملاً تصادفی در محیط کشت، استفاده شد. برخی از فراسنجه‌های تخمیری در محیط کشت برآورد گردید و اثر جاذب‌ها در حذف رنگ بروموکروزول گرین اضافه شده به آب در زمان‌های ۳ و ۲٤ ساعت، نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. افزودن هر دو جاذب منجر به حذف کارآمد رنگ از آب (به‌ویژه سطح چهار درصد خاکستر پوست خربزه) شد. افزایش رنگ از صفر به ۵ پی‌پی‌ام، منجر به افزایش معنی‌دار پتانسیل تولید گاز و تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲٤ و ٤۸ ساعت انکوباسیون، انرژی متابولیسمی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، انرژی خالص شیردهی، بازده تولید پروتیین میکروبی و قابلیت هضم مادهٔ آلی در مقایسه با تیمار شاهد شد (P<۰/۰۵)، اما کلیهٔ این فراسنجه‌ها در سطح ۱۰ پی‌پی‌ام رنگ، کاهش معنی‌دار یافت. در مجموع، اضافه کردن دو جاذب به محیط کشت نه تنها مانع کاهش اثرات منفی رنگ (سطح ۱۰ پی‌پی‌ام) بر فراسنجه‌های تخمیری نشد، بلکه منجر به کاهش برخی از این فراسنجه‌ها شد و به‌نظر می‌رسد میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌توانند از بروموکروزول گرین (تا سطح ۵ پی‌پی‌ام) در جهت بهبود فراسنجه‌های تخمیری خود بهره ببرند.

واژه‌های کلیدی: رنگ، بروموکروزول گرین، جاذب، میکروارگانیسم، تولید گاز

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 120 pp: 241-252

The effect of bromocresol green on fermentation activities of ruminal microorganisms and its removal from water using melon skin ash and processed sodium bentonite.

By: Mohsen Kazemi[1]*, Elias Ibrahimi Khorram Abadi[1], Reza Valizadeh[2] and Somaye Heydari[3] Ameneh Eskandari Torbaghan[4]

1-Assistant professor, Department of Animal Science, Higher Education Complex of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran

2-Professor, Department of Animal science, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3-Assistant professor, Department of Chemistry, Higher Education Complex of Torbat-e Jam, Torbat-e Jam, Iran

4- Professional Engineering, Department of Environmental Health Engineering, Torbat-e Jam Faculty of Medical Sciences

Received: October 2017 **Accepted: January 2018**

An experiment was conducted to investigate two adsorbents containing ash prepared from the melon skin and sodium bentonite in removing bromocresol green as water pollutant in a culture medium prepared from rumen microorganisms and artificial saliva. Bromocresol green at three levels (0, 5 and 10 ppm) with processed sodium bentonite or ash prepared from melon skin, each at three levels (0, 4 and 8 mg) were used with a 3×2×3 factorial experiment in a laboratory media according to a completely randomized design. Some of the fermentation parameters were estimated in the culture medium and the effect of adsorbents on bromocresol green removal was also evaluated in water at 3 and 24 hours. The effective removal of dye was observed (especially at 4% melon skin ash) when two adsorbent was added to water. Compared to the control, the gas production potential, cumulative gas production after 12, 24 and 48h incubation, metabolizable energy, short chain fatty acids, net energy for lactation, microbial protein yield, and organic matter digestibility increased significantly ($P<0.05$) when 5 ppm of dye was added to the culture medium, but the 10 ppm of dye resulted in a decrease in these parameters. Generally, the addition of two adsorbents to the culture medium not only did not reduce the negative effects of the dye (10 ppm) on the fermentation parameters but also reduced some of these parameters and also it seems that ruminal microorganisms can use bromocerosol green (up to 5 ppm) to increase their fermentation parameters.

Key words: Dye, Bromocresol green, Adsorbent, Microorganism, Gas production.

مقدمه

روند رو به رشد جمعیت و خشکسالی‌های اخیر، ایران را با بحران جدی تأمین آب در آینده روبرو خواهد کرد، از این‌رو در چنین شرایطی یکی از راهکارهای مؤثر و عملی، استفاده بهینه و صرفه‌جویی در مصرف آب بوده به‌طوری‌که استفاده از پساب‌های کارخانجات مختلف در شرب دام‌های اهلی از جمله نشخوارکنندگان در آینده نه چندان دور، نیز ضروری به‌نظر می‌رسد. حجم منابع آب تجدیدپذیر حدود ۱۰۰ میلیارد مترمکعب است که ۷۰ درصد آن در بخش کشاورزی مصرف می‌شود (ناصری و همکاران، ۱۳۹۶). امروزه رنگ‌های شیمیایی مختلف به‌طور گسترده‌ای در صنایع مختلف رنگرزی، نساجی، دارویی مصرف می‌شوند و به‌عنوان مهمترین منابع آلوده کنندهٔ آبی مطرح هستند (Ali, 2010). حجم پساب‌های تولید شده در این کارخانجات زیاد بوده و می‌توان با در نظر گرفتن راهکارهای مناسب، از مصرف آن در بخش‌های مختلف کشاورزی از جمله دامپروری بهره جست. بروموکروزول گرین رنگ شیمیایی از نوع آنیونیک بوده که به‌عنوان منبع آلوده کنندهٔ محیطی مطرح بوده و در بسیاری از صنایع نساجی و رنگرزی کاربرد فراوان دارد (Shokrollahi و همکاران، 2011). روش‌های مختلفی جهت حذف انواع رنگ‌های شیمیایی از پساب‌های صنعتی کارخانجات انجام شده است که از آن‌جمله می‌توان به جداسازی غشایی، الکتروشیمیایی، انعقاد و لخته‌زایی، تجزیه‌ی فتوکاتالیستی، اکسیداسیون توسط اوزون و تصفیهٔ بیولوژیکی اشاره نمود، اما

استفاده از این روش‌ها بسیار پرهزینه بوده و در برخی موارد نیازمند بکارگیری نیروی کار متخصص می‌باشد (شریعتی و همکاران، ۱۳۸۹)، در عوض امروزه محققین به‌دلیل ارزان بودن و سهل الوصول بودن، به‌سمت استفاده از جاذب‌های ارزان‌قیمت برای حذف مواد رنگی موجود در پساب‌ها روی آورده‌اند که می‌توان به استفاده از کاه جو فرآوری شده در حذف رنگ کریستال ویوله (عمویی و همکاران، ۱۳۹۳)، حذف رنگ متیلن بلو به‌کمک کاه برنج اصلاح شده با اسید سیتریک (Gong و همکاران، 2006)، حذف رنگ متیلن بلو به‌کمک خاکستر گیاه پرسیکا (بذرافشان و کرد مصطفی‌پور، ۱۳۹۱) و حذف متیلن بلو به کمک کربن فعال تهیه شده از برگ درخت انگور اشاره نمود (موسوی و همکاران، ۱۳۹۴). خربزه (*Cucumis melo* L.) با تولید ۱/۴۷ میلیون تن در کشور، از جمله محصولات پرکشت محسوب شده و بخش اعظمی از مزارع شهرستان تربت‌جام به کشت این محصول اختصاص داده شده است. میوه‌ی این گیاه پس از برداشت و مصرف، دارای ضایعات فراوانی از جمله پوست بوده که اغلب دور ریخته می‌شوند و یا به مصرف دام می‌رسند، از طرفی به‌منظور کاهش هزینه‌های مربوط به تهیهٔ مواد جاذب رنگ، استفاده از مواد ارزان قیمت از قبیل باقیمانده‌های محصولات کشاورزی و صنعتی، جهت تولید کربن فعال به‌عنوان گزینه‌ای بالقوه همواره مد نظر قرار گرفته است، با این وجود هیچ گزارشی در خصوص اثر استفاده از خاکستر پوست خربزه در جذب رنگ‌های مختلف شیمیایی گزارش نشده است. بنتونیت سدیم نیز از جمله کانی‌های رسی است که محققان زیادی از آن به‌عنوان مکمل در جیره دام استفاده کرده‌اند (آقاشاهی و همکاران ۱۳۸۴؛ Chegeni و همکاران، 2013). بنتونیت به‌عنوان جاذب مواد عمل کرده و قادر است سموم موجود در خوراک را مهار کند (Grant and Philips, 1998; Philips, 1999). اطلاعات دیگری نیز وجود دارد که نشان می‌دهد بنتونیت قابلیت جذب رنگ‌های شیمیایی مختلف را دارا بوده و قابلیت رنگ‌زدایی ویژه‌ای دارد (Tahir and Rauf, 2006). با توجه به کمبود منابع آبی در آینده، احتمال بکارگیری پساب‌های تصفیه شده صنایع در شرب دام وجود خواهد داشت، از طرفی هیچ مطالعه‌ای در ارتباط با اثر رنگ‌های شیمیایی موجود در پساب‌های صنعتی برای دام نشخوارکننده در ایران وجود ندارد.

بنابراین، هدف از این پژوهش بررسی اثر رنگ بروموکروزول گرین بر فعالیت‌های تخمیری میکروارگانیزم‌های شکمبه و کارآیی استفاده از خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و بنتونیت سدیم فرآوری شده در حذف آلودگی آب از رنگ موردنظر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جاذب‌ها و رنگ شیمیایی

میوهٔ خربزه به‌صورت تصادفی از مزارع شهرستان تربت‌جام جمع‌آوری گردید و بلافاصله به آزمایشگاه مرکزی مجتمع آموزش عالی تربت‌جام انتقال داده شد. پس از جداسازی بخش‌های مختلف آن، پوست آن‌ها جدا شده و به قطعات کوچکتر، ریز و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن کامل، به‌داخل ظرف مخصوص فولادی ریخته شد و پس از بسته شدن درب ظرف، بلافاصله به کوره با دمای ۵۵۰ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از خروج از کوره و سرد شدن، به‌داخل ظرف مخصوص انتقال داده شد و تا زمان انجام آزمایشات بعدی ذخیره گردید. نمونه‌های بنتونیت سدیم (با نام تجاری بنتوفید) از شرکت ویوان (زرین خاک قاین) تهیه شد. بنتونیت مورد نظر، چندین مرتبه با آب مقطر دوبار تقطیر شسته شده و در ادامه با استفاده از کاغذ صافی معمولی، صاف شده و پس از ریختن در ظروف مخصوص، بلافاصله به بن‌ماری با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت تا خشک شدن کامل، انتقال گردید. رنگ بروموکروزول گرین (با فرمول ملکولی $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$) از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

اندازه‌گیری قابلیت حذف رنگ توسط جاذب‌ها و تکنیک تولید گاز

در برآورد قابلیت حذف رنگ توسط جاذب‌ها، از سه سطح بروموکروزول گرین (صفر، ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام) همراه با دو نوع جاذب (هر کدام در سه سطح صفر، ۴ و ۸ میلی‌گرم) استفاده شد. غلظت‌های ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام از یک محلول مادر (با غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام) تهیه شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های رنگی دارای بروموکروزول گرین با غلظت ۵ و یا ۱۰ پی‌پی‌ام در داخل لوله‌های

آزمایشگاهی مخصوصی که از قبل در آن‌ها بنتونیت سدیم فرآوری شده (صفر، ۴ و ۸ میلی‌گرم) و یا خاکستر تهیه شده از پوست خربزه (صفر، ۴ و ۸ میلی‌گرم) ریخته شده بود، اضافه گردید. لوله‌های آزمایش بلافاصله به بن‌ماری با حرارت ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد (مشابه آزمون تولید گاز) برای زمان‌های ۳ و ۲۴ ساعت انتقال داده شد. برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شدند. پس از پایان دوره انکوباسیون، میزان جذب آنها در طول موج ۶۱۶ نانومتر (Zarei Chaleshtori و همکاران، 2013) توسط دستگاه اسپکتروفتومتری (Photonix-Ar-2017) قرائت شد. در روش تولید گاز، بروموکروزول گرین نیز به‌عنوان منبع آلایندهٔ سنتتیکی در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام) همراه با بنتونیت سدیم فرآوری شده و خاکستر پوست خربزه هر کدام در سه سطح (۰، ۲ و ۴ درصد مادهٔ خشک نمونه خوراکی اضافه شده به محیط کشت معادل: صفر، ۴ و ۸ میلی‌گرم) به یک محیط کشت آزمایشگاهی اضافه گردید. غلظت‌های تهیه شده از بروموکروزول گرین (۵ یا ۱۰ پی‌پی‌ام) برای محیط کشت ۳۰ میلی‌لیتری در نظر گرفته شده بود. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نر مغانی (میانگین وزن زنده ۴/۵±۴۵) که به‌مدت سه ماه با یک جیرهٔ (NRC, 2007) شامل یونجه و کنسانتره (نسبت ۳۰ به ۷۰) تغذیه می‌شدند و کنسانتره آن‌ها دارای ۲/۹۴ مگاکالری انرژی قابل متابولیسم در هر کیلوگرم مادهٔ خشک و ۱۴ درصد پروتیین خام بود، بلافاصله بعد از کشتار این حیوانات و از شکمبه آن‌ها گرفته شد. مایع شکمبه گرفته شده با پارچه متقال چهار لایه صاف و بلافاصله با استفاده از فلاکس مخصوص به آزمایشگاه انتقال داده شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم از یونجهٔ خشک (به‌عنوان تنها مادهٔ خوراکی) و آسیاب شده با مش یک میلیمتری، در داخل شیشه‌های با حجم ۱۲۰ میلی‌لیتر ریخته شد و سپس غلظت (صفر، ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام) مشخصی از رنگ بروموکروزول گرین (تهیه شده از محلول مادر) همراه با جاذب‌های مختلف (بنتونیت سدیم و خاکستر پوست خربزه هر کدام به مقدار صفر، ۴ و ۸ میلی‌گرم) در داخل شیشه‌ها ریخته شد و پس از افزودن مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (با نسبت یک به دو) بلافاصله درب آن‌ها با استفاده از درپوش‌های لاستیکی و کپ‌های آلومینیومی به‌کمک ابزار کریمپر پلمپ شده و به بن‌ماری با دمای ۳۹ درجهٔ سانتی‌گراد برای زمان‌های ۳، ۶، ۹، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت انتقال داده شدند. برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد. مقدار فشار گاز در زمان‌های فوق به کمک فشارسنج دیجیتالی (PTB330, Env Company) ثبت گردید و همزمان میزان حجم گاز تولید شده اندازه‌گیری و ثبت شد (Theodorou و همکاران، 1994). محلول محیط کشت بر اساس روش ارایه شده Menke and Steingass (1988) تهیه شد.

فراسنجه های تولید گاز

داده‌های مربوط به بخش گاز نیز بر اساس معادله ($P=b(1-e^{-ct})$ مورد برازش قرار گرفت (Ørskov and Mcdonald، 1979) که در این معادله، P برابر حجم گاز تولیدی در زمان t، b برابر تولید گاز از بخش نامحلول ولی قابل تخمیر (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک)، c برابر با ثابت نرخ تولید گاز برای b (میلی‌لیتر در ساعت) و t معادل زمان انکوباسیون (ساعت) می‌باشد. انرژی خالص شیردهی (NEl)، قابلیت هضم مادهٔ آلی (OMD) و انرژی متابولیسمی (ME) بر اساس معادلات Menke and Steingass (1988) برآورد شدند:

NEl (MJ/kg DM) = -۰/۳۶+۰/۱۱۴۹GP+۰/۰۰۵۴ XP+ ۰/۰۱۳۹XL-۰/۰۰۵۴XA

OMD (%) = ۴۲/۸۵+۰/۶۷۶۶GP

ME (MJ/kg DM) =۱/۰۶+۰/۱۵۷۰GP+۰/۰۰۸۴ XP+ ۰/۰۲۲۰XL-۰/۰۰۸۱XA

که در معادلات فوق، GP معادل حجم تجمعی گاز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون برای ۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک نمونه بوده و XP، XL و XA به‌ترتیب معادل درصد پروتئین خام، درصد چربی‌خام و درصد خاکستر خام نمونه انکوبه شده در محیط کشت می‌باشند.

کل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بر اساس معادله Makkar (2005) ارایه شد که برابر معادله زیر بود:

SCFA (mmol/200 mgDM)=۰/۰۲۲۲GP-۰/۰۰۴۲۵،

که در این معادله GP معادل حجم تجمعی گاز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون برای ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه انکوبه شده، می‌باشد. بازده پروتئین میکروبی به‌صورت ۱۹/۳ گرم نیتروژن میکروبی به

ازای هر کیلوگرم مادهٔ آلی قابل تجزیه، گزارش گردید (Czerkawaski, 1986).

حذف رنگ

نمودارهای مربوط به حذف رنگ بروموکروزول گرین در حضور جاذب‌ها به‌کمک نرم‌افزار Excel (2007) تهیه شد. درصد حذف رنگ بروموکروزول گرین (R) با توجه به معادله $R\% = [C_0 - C_t/C_0] \times 100$ محاسبه شد که در این معادله C_0 و C_t به‌ترتیب غلظت اولیه و نهایی رنگ (پس از جذب) می‌باشد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۴).

تجزیه و تحلیل آماری

از یک آزمایش فاکتوریل۳×۲×۳ (عامل اول سه سطح بروموکروزول گرین، عامل دوم دو نوع جاذب شامل خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم و عامل سوم سه سطح جاذب) با طرح پایهٔ کاملاً تصادفی استفاده گردید به‌طوری‌که مدل آماری طرح شامل

$$Y_{ijk}=\mu+A_i+B_j+AB_{ij}+C_k+AC_{ik}+BC_{jk}+ABC_{ijk}+\epsilon_{ij}$$

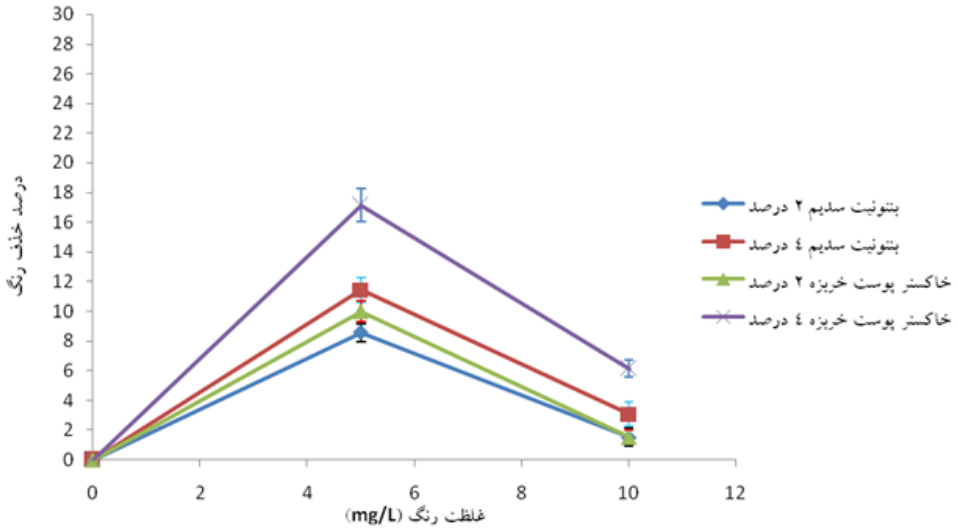
k بود که در آن Y_{ijk}= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین فاکتور مورد مطالعه، A_i= اثر سطوح رنگ بروموکروزول گرین، B_j= اثر نوع جاذب، $(AB)_{ij}$= اثر متقابل سطوح رنگ و نوع جاذب، C_k= اثر سطوح جاذب، AC_{ik}= اثر متقابل سطوح رنگ بروموکروزول گرین و سطوح جاذب، BC_{jk}= اثر متقابل نوع جاذب و سطوح جاذب، ABC_{ijk}= اثر متقابل بین سطوح رنگ بروموکروزول گرین، نوع جاذب و سطوح جاذب بوده و ε_{ijk}= خطای آزمایشی بود. اختلاف آماری بین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) تعیین شد.

نتایج و بحث

قدرت حذف رنگ به‌کمک جاذب‌ها

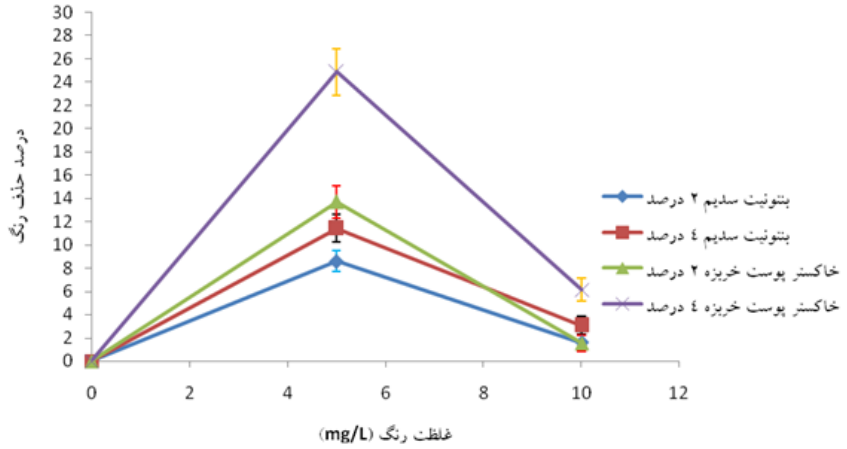
درصد حذف رنگ بروموکروزول گرین موجود در آب توسط دو جاذب در زمان ۳ و ۲۴ ساعت انکوباسیون به‌ترتیب در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. بیشترین درصد حذف رنگ بروموکروزول گرین در سطوح ۵ و۱۰ پی‌پی‌ام، مربوط به سطح ۴ درصد خاکستر پوست خربزه در هر دو زمان ۳ و ۲۴ ساعت انکوباسیون بوده هر چند که بررسی نمودارها نشان دهندهٔ عملکرد یکسان سطح ۴ درصد بنتونیت سدیم و ۲ درصد خاکستر پوست خربزه برای حذف رنگ بروموکروزول گرین در غلظت ۵ و ۱۰ پی‌پی‌ام را نشان می‌دهد. کارآیی سطح چهار درصد خاکستر پوست خربزه و یا بنتونیت سدیم در حذف رنگ بروموکروزول گرین نسبت به سطح دو درصد آن‌ها در زمان ۳ و ۲۴ ساعت انکوباسیون، بیشتر بود. Shokrollahi و همکاران (2011) گزارش کردند که گیاه رمیلک (*Ziziphus nummularia*) قادر به جذب رنگ بروموکروزول گرین در محیط آب می‌باشد. همچنین Ghaedi و همکاران (2012) موفق به حذف بروموکروزول گرین از آب توسط نانوسیم هیدروکسید کادمیوم آغشته به زغال فعال، شدند. نتایج مطالعهٔ دیگری نیز نشان داد که زغال فعال تهیه شده از برگ درخت انگور، قابلیت حذف رنگ دیگری با نام متیلن بلو در محیط آب با کارآیی بالا را دارا می‌باشد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۴). در مطالعهٔ دیگری نیز مشخص گردید که خاکستر ساقه گیاه پرسیکا می‌تواند به نحو مؤثر و کارآمدی جهت حذف رنگ متیلن بلو از محلول‌های آبی مورد استفاده قرار گیرد (بذرافشان و کرد مصطفی‌پور، ۱۳۹۱). در مطالعهٔ حاضر (شکل ۱) نیز هر دو جاذب بنتونیت سدیم و خاکستر پوست خربزه تا حدودی توانایی حذف رنگ بروموکروزول گرین در محیط آبی را داشته اما به‌نظر می‌رسد که کارآیی خاکستر پوست خربزه در مقایسه با بنتونیت سدیم در حذف رنگ، بیشتر باشد. مطالعات نشان داده است که کاربرد مقدار جاذب و نوع جاذب در غلظت‌های متفاوت رنگ، جذب‌های مختلفی را از خود نشان می‌دهند (بذرافشان و کرد مصطفی‌پور، ۱۳۹۱). در مطالعه حاضر، افزایش خاکستر پوست خربزه از دو به چهار درصد در محیط آبی آلوده به بروموکروزول گرین در هر دو زمان ۳ و ۲۴ ساعت انکوباسیون، منجر به افزایش راندمان حذف رنگ گردید و این نشان‌دهنده این مطلب است که در محیط آبی با افزایش تعداد سایت‌های جذبی امکان برخورد بین جاذب و جذب شونده بیشتر شده و منجر به افزایش درصد جذب خواهد شد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۴). مطالعهٔ بذرافشان و همکاران در سال ۱۳۹۱ نشان داد که با افزایش دوز جاذب (خاکستر ساقه گیاه پرسیکا) از ۰/۲ به ۳ گرم، راندمان حذف مادهٔ رنگ‌زا افزایش

یافته به‌طوری‌که حداکثر جذب ۹۶/۱۱ درصد بوده که دلیل آن افزایش تعداد سایت جذب با افزایش دوز جاذب عنوان شده است که در تطابق با مطالعهٔ حاضر برای خاکستر پوست خربزه می‌باشد. بنتونیت نیز از جمله مهمترین منابع جاذب بوده که از آن به‌عنوان جاذب رنگ توسط محققان بسیاری استفاده شده است (Liu و همکاران، 2015؛ Zohra و همکاران، 2008) و ایران با تولید تقریبی ۲/۵ درصد از بنتونیت کل دنیا، سهم درخور توجهی را به خود اختصاص داده است (Maxim و همکاران، 2016). در مطالعهٔ اخیر، کارآیی سطح چهار درصد بنتونیت سدیم در حذف رنگ (با غلظت ۵ پی‌پی‌ام) بیشتر از سطح دو درصد آن بود. در آزمایش Zohra و همکاران (2008)، مقادیر زیادی از رنگ مستقیم قرمز ۲، جذب بنتونیت اصلاح شده گردید. همچنین Dincer و همکاران (2007)، میزان حذف دو رنگ آبی ۴۹ و نارنجی ۱۳ را با استفاده از ضایعات خاکستر زغال‌سنگ به‌ترتیب ۱۳/۵۱ و ۴/۵۴ میلی‌گرم در هر گرم از جاذب گزارش نمودند. گزارش شده است که بیشترین میزان جذب در دقایق اولیه انکوباسیون رخ می‌دهد که دلیل آن سرعت جذب بالاتر در زمان‌های ابتدایی است و با گذر زمان و اشغال شدن نقاط فعال سطح جاذب، سرعت جذب کاهش یافته تا اینکه در یک زمان مشخص این مقدار ثابت می‌گردد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۴) که با مقایسه دو شکل ۱ و ۲ در مطالعهٔ اخیر نیز مشخص می‌گردد که خاکستر پوست خربزه در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون، بیشترین جذب را نسبت به زمان ۳ ساعت انکوباسیون داشته است و با این فرضیات مطابقت دارد. از طرفی بررسی نتایج شکل ۱ و ۲ نشان داد که با افزایش غلظت بروموکروزول گرین از ۵ به ۱۰ پی‌پی‌ام، کارآیی خاکستر تهیه شده از پوست خربزه و نیز بنتونیت سدیم در هر دو سطح دو و چهار درصد در حذف بروموکروزول گرین کاهش چشمگیری داشت که شاید دلیل عمدهٔ آن مربوط به بالا رفتن غلظت رنگ در آب و نیز کاهش سایت‌های جذب خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم باشد.



شکل۱- درصد حذف رنگ بروموکروزول گرین موجود در آب توسط دو جاذب در زمان ۳ ساعت انکوباسیون

Sreelatha و همکاران (2011)، نشان دادند که با افزایش غلظت اولیهٔ رنگ راکتیو، راندمان حذف آن توسط کیتوزان کاهش پیدا می‌کند که آنها این کاهش را به این نسبت دادند که در یک دوز مشخص از کیتوزان، سایت‌های جذب موجود، ثابت و محدود می‌شوند.



شکل۲- درصد حذف رنگ بروموکروزول گرین موجود در آب توسط دو جاذب در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون

تولید گاز

اثر استفاده از رنگ شیمیایی بروموکروزول گرین با و یا بدون جاذب بر پاسخ تولید گاز میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت در جدول ۱ آورده شده است. استفاده از بروموکروزول گرین در سطح ۵ پی‌پی‌ام در محیط کشت، منجر به افزایش معنی‌دار گاز تجمعی تولید شده در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون و نیز پتانسیل تولید گاز در مقایسه با تیمار شاهد شد ($P<۰/۰۵$) ولی اثر معنی‌داری بر کاهش یا افزایش ثابت نرخ تولید گاز نداشت. در اثر افزایش سطح هر کدام از جاذب‌های خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم در محیط کشت، پتانسیل تولید گاز و تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$). اثر متقابل بین سطوح رنگ و سطوح جاذب برای کلیه‌ی فراسنجه‌های گزارش شده در جدول ۱ به‌غیر از پتانسیل تولید گاز ($P=۰/۱۴$) معنی‌دار شد. همچنین، اثر متقابل بین سطوح رنگ و نوع جاذب برای ثابت نرخ تولید گاز و تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون، معنی‌دار شد (سطح معنی‌داری به‌ترتیب برابر با ۰/۰۷، ۰/۰۲ و ۰/۰۴ بود). اثر متقابل بین نوع جاذب و سطوح جاذب برای کلیه‌ی فراسنجه‌های جدول ۱ به‌غیر از ثابت نرخ تولید گاز، معنی‌دار شد و نیز اثر متقابل بین سطوح رنگ، نوع جاذب و سطوح جاذب برای کلیه این فراسنجه‌ها، معنی‌دار نشد. تاکنون مطالعه‌ای مبنی بر استفاده و تأثیرگذاری بروموکروزول گرین در محیط کشت تهیه شده از مایع شکمبه دام‌های نشخوارکننده گزارش نشده است اما در مطالعهٔ حاضر کاهش سطح گاز تولید شده در اثر کاربرد بروموکروزول گرین در محیط کشت مشهود بود. معمولاً اکثر رنگ‌های شیمیایی صنعتی، دارای ساختار کمپلکسی پیچیده آروماتیکی بوده که وقتی به محیط رها می‌شوند، به‌راحتی تجزیه نمی‌گردند و نیز گزارش شده که این رنگ برای سلول‌های اغلب پستاندران، خاصیت موتاژنیک و سمیت را دارا می‌باشد (Fessard و همکاران، ۱۹۹۹). در مطالعهٔ حال حاظر نیز به‌نظر می‌رسد میکروارگانیسم‌های محیط شکمبه قادر به تجزیه و خنثی کردن اثرات منفی بروموکروزول گرین به‌ویژه در سطح ۱۰ پی‌پی‌ام نمی‌باشند. هنوز گزارشی در خصوص تأثیر بروموکروزول گرین بر محیط کشت تهیه شده از مایع شکمبه گزارش نشده است ولی در برخی از مطالعات، اثرات باکتری‌کشی برخی از رنگ‌های شیمیایی در سایر محیط‌های آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (Ali, 2010). در مطالعهٔ حال حاظر نیز به‌نظر می‌رسد میکروارگانیسم‌های محیط شکمبه قادر به استفاده از بروموکروزول گرین به نفع تولید فراسنجه‌های تخمیری خود بوده‌اند ولی به‌نظر می‌رسد که با افزایش سطح بروموکروزول گرین به ۱۰ پی‌پی‌ام، این رنگ اثرات متغایر برای میکروارگانیسم‌های محیط کشت داشته است که متعاقباً موجب تأثیرپذیری فراسنجه‌های تخمیری در این آزمایش شده است.

جدول ۱- اثر استفاده از رنگ شیمیایی بروموکروزول گرین با و یا بدون جاذب بر پاسخ تولید گاز میکروارگانیسم‌ها در محیط کشت

تیمار	پتانسیل تولید گاز (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک)	ثابت نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر/ساعت)	گاز ۱۲ ساعت (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک)	گاز ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک)	گاز ۴۸ ساعت (میلی‌لیتر/۲۰۰ میلی‌گرم مادهٔ خشک)
شاهد	۵۹/۰۴^{b}	۰/۰۹۰^{abc}	۳۷/۷۶^{b}	۴۸/۷۹^{b}	۵۵/۴۵^{b}
شاهد+دو درصد بنتونیت[1]	۵۷/۳۳^{bc}	۰/۰۸^{bcd}	۳۵/۳۷^{bcd}	۴۶/۰۳^{bcde}	۵۲/۸۸^{bcd}
شاهد+چهار درصد بنتونیت	۵۵/۴۶^{cde}	۰/۰۸۴^{abc}	۳۵/۰۴^{bcd}	۴۵/۱۵^{def}	۵۱/۵۶^{de}
شاهد+دو درصد خاکستر[2]	۵۳/۵۳^{e}	۰/۰۸^{bcd}	۳۲/۹۴^{d}	۴۲/۶۴^{f}	۴۹/۱۳^{e}
شاهد+چهار درصد خاکستر	۴۸/۲۶^{f}	۰/۰۷۱^{bcd}	۲۸/۲۳^{e}	۳۷/۳۷^{g}	۴۳/۳۸^{f}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین	۶۲/۴۸^{a}	۰/۱۰۶^{a}	۴۳/۲۹^{a}	۵۳/۶۹^{a}	۵۹/۳۷^{a}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد بنتونیت	۵۹/۲۶^{b}	۰/۰۸۶^{abc}	۳۷/۲۲^{bc}	۴۸/۰۹^{bc}	۵۳/۶۲^{bcd}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد بنتونیت	۵۷/۸۸^{bc}	۰/۰۵۹^{d}	۳۶/۴۴^{bc}	۴۷/۳۶^{bcd}	۵۴/۲۸^{bc}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد خاکستر	۵۶/۶۰^{bcd}	۰/۰۷۸^{bcd}	۳۴/۴۹^{cd}	۴۵/۴۰^{cdef}	۵۱/۶۷^{cde}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد خاکستر	۵۴/۰۷^{de}	۰/۰۸۶^{abc}	۳۳/۱۴^{d}	۴۳/۵۸^{ef}	۴۹/۷۷^{e}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین	۳۰/۶۴^{g}	۰/۰۷۷^{bcd}	۲۱/۱۲^{f}	۲۴/۱۹^{h}	۲۶/۵۵^{g}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد بنتونیت	۳۰/۳۳^{g}	۰/۰۷۳^{bcd}	۱۹/۷۶^{fg}	۲۳/۹۳^{h}	۲۶/۵۱^{g}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد بنتونیت	۲۸/۴۳^{g}	۰/۰۶۷^{cd}	۱۷/۴۰^{gh}	۲۱/۰۴^{ij}	۲۳/۹۹^{g}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد خاکستر	۲۸/۸۹^{g}	۰/۰۹۶^{ab}	۱۷/۲۵^{gh}	۲۳/۴۱^{ih}	۲۵/۵۱^{g}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد خاکستر	۲۳/۲۶^{h}	۰/۰۹۲^{abc}	۱۴/۷۶^{h}	۱۹/۶۶^{j}	۲۰/۶۹^{h}
SEM	۰/۹۸	۰/۰۰۸	۰/۹۲	۰/۹۳	۰/۸۵
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ	<۰/۰۰۰۱	۰/۳۲	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری نوع جاذب	<۰/۰۰۰۱	۰/۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ×نوع جاذب	۰/۳۲	۰/۰۷	۰/۴	۰/۰۲	۰/۰۴
احتمال معنی‌داری سطوح جاذب	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۶	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ×سطوح جاذب	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۰۲	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری نوع جاذب×سطوح جاذب	<۰/۰۰۰۱	۰/۳۳	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ× نوع جاذب×سطوح جاذب	۰/۷	۰/۱	۰/۳۹	۰/۱۸	۰/۳۶

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد ($P<0/05$).

ثابت نرخ تولید گاز: c_{gas} و پتانسیل تولید گاز: b_{gas}؛ [1]بنتونیت سدیم؛ [2]خاکستر پوست خربزه

بنتونیت از دسته کانی‌های رسی بوده که برای افزایش عملکرد نشخوارکنندگان به‌دلیل ظرفیت بافری آن و نیز ظرفیت تبادل یونی بالای آن به‌وفور استفاده می‌شود (Lee و همکاران، 2010). Lee و همکاران (2010) مشاهده کردند که در اثر اضافه کردن بنتونیت به جیرهٔ گوساله‌های پرواری، میزان تولید گاز (SO_2، NH_3 و H_2S) در کود آن‌ها در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد که آن‌ها دلیل احتمالی کاهش این گازها را مربوط به قدرت جذب بالا و ظرفیت بالای تبادل یونی بنتونیت گزارش کردند. در نتیجهٔ افزودن بنتونیت سدیم (دو درصد مادهٔ خشک جیره) به محیط کشت، تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت انکوباسیون، ثابت نرخ تولید گاز و نیز نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد، کاهش معنی‌داری داشت (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۲)، ولی تجزیه‌پذیری مادهٔ خشک تغییری نداشت. هیچگونه گزارشی مبنی بر تأثیر خاکستر و

یا زغال فعال بر محیط کشت تهیه شده از مایع شکمبه، تاکنون ارایه نشده است ولی با این وجود، مطالعات انسانی نشان داده که زغال فعال، گاز تولید شده (عمدتاً H_2 و CO_2) که عمدتاً ناشی از مصرف خانواده بقولات (به‌خاطر وجود دو قند رافینوز و استاکیوز) در روده باریک می‌باشد را کاهش داده که علت آن مربوط به نقش ممانعت کنندگی زغال از تولید باکتری‌ها، و جذب سطحی H_2 و CO_2 می‌باشد (Potter و همکاران، 1985). بنابراین به‌نظر می‌رسد که بخشی از کاهش تولید گاز ناشی از افزودن زغال فعال در محیط کشت حال حاضر با فرضیات بالا در تطابق باشد. اثر استفاده از رنگ شیمیایی بروموکروزول گرین با و یا بدون جاذب بر فراسنجه‌های تخمین زده شده از تولید گاز در جدول ۲ آورده شده است. استفاده از بروموکروزول گرین در سطح ۵ پی‌پی‌ام در محیط کشت، منجر به افزایش معنی‌دار انرژی متابولیسمی، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، تجزیه‌پذیری مادهٔ آلی و تولید پروتیین میکروبی شد.

جدول ۲- اثر استفاده از رنگ شیمیایی بروموکروزول گرین با و یا بدون جاذب بر فراسنجه‌های تخمین زده شده از تولید گاز

تیمار	انرژی متابولیسمی (مگاژول/کیلوگرم مادهٔ خشک)	انرژی خالص شیردهی (مگاژول/کیلوگرم مادهٔ خشک)	اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول)	تجزیه‌پذیری مادهٔ آلی (درصد)	تولید پروتیین میکروبی (گرم/کیلوگرم مادهٔ آلی قابل تخمیر)
شاهد	۸/۸۰^{b}	۵/۲۹^{b}	۱/۰۸^{b}	۷۵/۸۶^{b}	۱۴/۶۴^{b}
شاهد+دو درصد بنتونیت[1]	۸/۳۷^{bcde}	۴/۹۸^{bcde}	۱/۰۲^{bcde}	۷۳/۹۹^{bcde}	۱۴/۲۸^{bcde}
شاهد+چهار درصد بنتونیت	۸/۲۳^{def}	۴/۸۸^{def}	۰/۹۹۸^{def}	۷۳/۴۰^{def}	۱۴/۱۶^{def}
شاهد+دو درصد خاکستر[2]	۷/۸۴^{f}	۴/۵۹^{f}	۰/۹۴^{f}	۷۱/۷۰^{f}	۱۳/۸۴^{f}
شاهد+چهار درصد خاکستر	۷/۰۱^{g}	۳/۹۸^{g}	۰/۸۲^{g}	۶۸/۱۴^{g}	۱۳/۱۵^{g}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین	۹/۵۷^{a}	۵/۸۶^{a}	۱/۱۹^{a}	۷۹/۱۸^{a}	۱۵/۲۸^{a}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد بنتونیت	۸/۶۹^{bc}	۵/۲۱^{bc}	۱/۰۶^{bc}	۷۵/۳۹^{bc}	۱۴/۵۵^{bc}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد بنتونیت	۸/۵۸^{bcd}	۵/۱۳^{bcd}	۱/۰۵^{bcd}	۷۴/۸۹^{bcd}	۱۴/۴۵^{bcd}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد خاکستر	۸/۲۷^{cdef}	۴/۹۱^{cdef}	۱/۰۰^{cdef}	۷۳/۵۷^{cdef}	۱۴/۲۰^{cdef}
۵ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد خاکستر	۷/۹۹^{ef}	۴/۷۰^{ef}	۰/۹۶^{ef}	۷۲/۳۴^{ef}	۱۳/۹۶^{ef}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین	۴/۹۴^{h}	۲/۴۷^{h}	۰/۵۳^{h}	۵۹/۲۱^{h}	۱۱/۴۲^{h}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد بنتونیت	۴/۹۰^{h}	۲/۴۴^{h}	۰/۵۳^{h}	۵۹/۰۴^{h}	۱۱/۳۹^{h}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد بنتونیت	۴/۴۵^{ij}	۲/۱۱^{ij}	۰/۴۶^{ij}	۵۷/۰۸^{ij}	۱۱/۰۲^{ij}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+دو درصد خاکستر	۴/۸۲^{ih}	۲/۳۸^{ih}	۰/۵۱^{ih}	۵۸/۶۹^{ih}	۱۱/۳۳i^{h}
۱۰ پی‌پی‌ام بروموکروزول گرین+چهار درصد	۴/۲۳^{j}	۱/۹۵^{j}	۰/۴۳^{j}	۵۶/۱۵^{j}	۱۰/۸۴^{j}
SEM	۰/۱۴	۰/۱۱	۰/۰۲	۰/۶۳	۰/۱۲
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری نوع جاذب	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ×نوع جاذب	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲
احتمال معنی‌داری سطوح جاذب	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ×سطوح جاذب	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲
احتمال معنی‌داری نوع جاذب×سطوح جاذب	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۸
احتمال معنی‌داری سطوح رنگ× نوع جاذب×سطوح جاذب	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها می‌باشد (P<۰/۰۵).

[1] بنتونیت سدیم؛ [2] خاکستر پوست خربزه

همچنین اضافه کردن خاکستر پوست خربزه و بنتونیت سدیم هر کدام به تنهایی منجر به کاهش معنی‌دار انرژی متابولیسمی، انرژی خالص شیردهی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، تجزیه‌پذیری مادهٔ آلی و تولید پروتیین میکروبی شد، بنابراین اضافه کردن هر دو جاذب به محیط کشت آلوده به بروموکروزول گرین نه‌تنها موجب کاهش اثرات منفی بروموکروزول گرین (سطح ۱۰پی‌پی‌ام) بر فراسنجه‌های تخمینی ارایه شده در جدول ۲ نشد بلکه منجر به کاهش آن‌ها در محیط کشت نیز گردید. کلیهٔ اثرات متقابل گزارش شده در جدول دو به‌غیر از اثرات سه جانبه سطوح رنگ، نوع جاذب و سطوح جاذب، معنی‌دار شد. مطالعه‌ای مبنی بر تعیین اثرات رنگ‌های مختلف شیمیایی از جمله بروموکروزول گرین در محیط کشت تهیه شده از مایع شکمبه گوسفند گزارش نشده است. عنوان شده که زغال فعال باعث جذب بسیای از توکسین‌ها شده (Levy، 1982) و در برخی موارد منجر به افزایش مصرف گیاهان دارای ترکیبات سمی می‌گردد (Poage و همکاران، 2000). در مطالعهٔ اخیر چون کلیه‌ی فراسنجه‌های گزارش شده در جدول ۲ بر اساس گاز تولید شده در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون تخمین زده شده بود بنابراین هر عاملی که گاز تولید شده در این زمان را را تحت تأثیر خود قرار دهد، قطعاً بر روی این فراسنجه‌ها تأثیرگذار خواهد بود بنابراین علت کاهش کلیهٔ فراسنجه‌های جدول ۲ در اثر افزودن بنتونیت سدیم به محیط کشت، در مقایسه با تیمار شاهد ناشی از کاهش تولید گاز در زمان ۲۴ ساعت انکوباسیون می‌باشد. علیرغم اینکه پتانسیل تولید گاز و تولید تجمعی گاز در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوباسیون در اثر افزودن ۴ درصد بنتونیت سدیم به محیط کشت کاهش یافت ولی در مقابل در آزمایشاتی که بر روی گوسفندان بلوچی انجام شد، مشخص گردید که استفاده از بنتونیت سدیم در جیره منجر به افزایش قابلیت هضم مادهٔ خشک و مادهٔ آلی در مقایسه با تیمار شاهد می‌گردد (Kazemi و همکاران، 2017). نتایج اثرات متقابل جدول ۲ نشان می‌دهد که استفاده توأم سطوح مختلف جاذب‌های خاکستر پوست خربزه و یا بنتونیت سدیم (مخصوصاً خاکستر پوست خربزه) همراه با سطوح مختلف بروموکروزول گرین به‌ویژه در سطوح بالا (۱۰ پی‌پی‌ام) منجر به کاهش بیشتر فراسنجه‌های برآورد شده در این جدول گردید.

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که میکروارگانیسم‌های شکمبه قادر به استفاده از رنگ بروموکروزول گرین تا سطح ۵ پی‌پی‌ام در جهت بهبود فعالیت‌های تخمیری خود بوده ولی در سطوح بالاتر آن (۱۰ پی‌پی‌ام) کلیهٔ فراسنجه‌های تخمیری محیط کشت، کاهش چشمگیری داشت. استفاده از دو جاذب بنتونیت سدیم و خاکستر تهیه شده از پوست خربزه هر کدام به‌تنهایی تا حدودی منجر به حذف رنگ بروموکروزول گرین موجود در آب شد ولی با وجود داشتن قابلیت جذب، افزودن آن‌ها به محیط کشت نه تنها باعث کاهش اثرات منفی رنگ بروموکروزول گرین بر روی فراسنجه‌های تخمیری مورد مطالعه به‌ویژه در سطح ۱۰ پی‌پی‌ام نشد بلکه منجر به کاهش شدیدتر این فراسنجه‌ها در مقایسه با تیمار شاهد شد به‌طوری‌که اثرات کاهشی خاکستر پوست خربزه در مقایسه با بنتونیت سدیم، بیشتر بود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل نتایج طرح تحقیقاتی مصوب در شورای پژوهشی مجتمع آموزش عالی تربت جام با کد TP۱۳۹۶۱ در سال ۱۳۹۶ بوده که نویسندگان مقاله، از مجتمع آموزش عالی تربت‌جام به‌خاطر حمایت‌های مالی آن، تشکر و قدردانی می‌نمایند.
همچنین از گروه ویوان بخاطر همکاری در اجرای این تحقیق، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

آقاشاهی، ع.، نیکخواه، ع.، میرهادی ا. و مرادی شهر بابک، م. (۱۳۸۴). اثرات بنتونیت فرآوری شده و نشده (مونتموریلونیت) و زئولیت (کلینوپتیلیونیت) بر فراسنجه‌های تخمیر، جمعیت میکروبی شکمبه و توان تولیدی گوساله‌های نر. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۶ (۳): ۶۲۳ -۶۱۳.

بذرافشان، ا. و کرد مصطفی پور، ف. (۱۳۹۱). بررسی حذف رنگ متیلن بلو از محلول های آبی با استفاده از خاکستر ساقه گیاه پرسیکا. مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی. ۴ (۳): ۵۲۳-۵۳۲.

شریعتی، ش.، فرجی، م.، یمینی، ی. و رجبی، ع. (۱۳۸۹). سنتز و کاربرد نانو ذرات مغناطیسی اکسید آهن اصلاح شده با سدیم دودسیل سولفات جهت حذف رنگ سافرانین از نمونه های آبی. مجموعه مقالات سیزدهمین همایش ملی بهداشت محیط ایران. دانشگاه علوم پزشکی کرمان. ص ص. ۱۵-۱.

عمویی، ع.، اصغرنیا، ح.، کریمیان، ک.، مهدوی، ی.، بلارک، د. و قاسمی، م. (۱۳۹۳). کارایی روش پاسخ سطح در بهینه سازی حذف کریستال ویوله از محیط‌های آبی به‌وسیله کاه جو اصلاح‌شده. مجله مهندسی بهداشت محیط. ۲ (۱): ۷۵-۶۵.

کاظمی، م.، طهماسبی، ع. م، ولی‌زاده، ر.، ناصریان، ع.، افشاری، ر. و صنعی، آ. (۱۳۹۲). تاثیر آفت کش ارگانوفسفره فوزالون (phosalone) همراه با مقادیر مختلف بنتونیت بر فراسنجه‌های تخمیر پذیری یک جیره کاملاً مخلوط شده در شرایط آزمایشگاهی. نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران. ۵ (۳): ۲۰۹-۲۰۱.

موسوی، ع.، خشیج، م. و شهبازی، پ. (۱۳۹۴). مطالعه ایزوترم و عوامل مؤثر بر رنگ بری متیلن بلو با استفاده از پودر کربن فعال تهیه‌شده از برگ درخت انگور. مجله ارتقای ایمنی و پیشگیری از مصدومیت ها. ۳ (۴): ۲۵۶-۲۴۹.

ناصر، ا.، عباسی، ف. و اکبری، م. (۱۳۹۶). برآورد آب مصرفی در بخش کشاورزی به روش بیلان آب. مجله تحقیقات مهندسی سازه‌های آبیاری و زهکشی. ۱۸ (۶۸): ۳۲-۱۷.

Ali, H. (2010). Biodegradation of synthetic dyes-a review. *Water Air Soil Pollution*. 213: 251–273.

Chegeni, A., Li, Y.L., Deng, K.D., Jiang, C.G. and Diao, Q.Y. (2013). Effect of dietary polymer-coated urea and sodium bentonite on digestibility, rumen fermentation, and microbial protein yield in sheep fed high levels of corn stalk. *Livestock Science*. 157: 141-150.

Czerkawaski, J.W. (1986). *An introduction to rumen studies*. Pergamon Press. Oxford. New York pp .236.

Dincer, A.R., Gunes, Y. and Karakaya, N. (2007). Coal-based bottom ash (CBBA) waste material as adsorbent for removal of textile dyestuffs from aqueous solution. *Journal of Hazardous Materials*. 141 (3): 529-535.

Fessard, V., Godard, T., Huet, S., Mourot, A. and Poul, J.M. (1999). Mutagenicity of malachite green and leucomalachite green *in vitro* tests. *Journal of Applied Toxicology*. 19: 421-430.

Ghaedi, M., Khajesharifi, H., Hemmati Yadkuri, A., Roosta, M., Sahraei, R. and Daneshfar, A. (2012). Cadmium hydroxide nanowire loaded on activated carbon as efficient adsorbent for removal of bromocresol Green. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 86: 62-68.

Gong, R., Jin, Y., Chen, F., Chen, J. and Liu, Z. (2006). Enhanced malachite green removal from aqueous solution by citric acid modified rice straw. *Journal of Hazardous Materials*. 137 (2): 865-870.

Grant, P.G. and Philips, T.D. (1998). Isothermal adsorption of aflatoxin B1 on HSCAS clay. *Agriculture Food Chememistry*. 46: 599-605.

Kazemi, M., Eskandary Torbaghan, A., Tahmasbi, A.M., Valizadeh, R. and Naserian, A.A. (2017). Effects of phosalone consumption via feeding with or without sodium bentonite on performance, blood metabolites and its transition to milk of Iranian Baluchi sheep. *Journal of Animal Science and Technology*. 59: 1-11.

Lee, S., Kim, Y. and Kwak, W. (2010). Effects of dietary addition of bentonite on manure gas emission, health, production, and meat characteristics of Hanwoo (*Bos taurus coreanae*) steers. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 23 (12): 1594-1600.

Levy, G. (1982). Gastrointestinal clearance of drugs with activated charcoal. *The New England Journal of Medicine*. 307: 676-678.

Liu, Q., Yang, B., Zhang, L. and Huang, R. (2015). Adsorption of an anionic azo dye by cross-linked chitosan/bentonite composite. *International Journal of Biological Macromolecules*. 72: 1129-1135.

Makkar, H.P.S. (2005). *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Animal Feed Science and Technology*. 123-124: 291-302.

Maxim, L.D., Niebo, R. and McConnell, E.E. (2016). Bentonite toxicology and epidemiology-a review. *Inhalation Toxicology*. 28 (13): 591-617.

Menke, K.H. and Steingass, 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: 7-55.

NRC. (2007). *Nutrient Requirements of Small Ruminants*: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. 6rd ed. Washington: National Academy Press.

Ørskov, E.R. and McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*. 92: 499-503.

Philips, T.D. (1999). Dietary clay in the chemoprevention of the aflatoxin induced disease. *Toxicological Sciences*. 52: 118-126.

Poage, G.W., Scott, C.B., Bisson M.G. and Hartmann F.S. (2000). Activated charcoal attenuates bitterweed toxicosis in sheep. *Journal of Range Management*. 53 (1): 73-78.

Potter, T., Ellis, C. and Levitt, M. (1985). Activated charcoal: *In vivo* and *in vitro* studies of effect on gas formation. *Gastroenterology*. 88 (3): 620-624.

SAS Institute INC. (2002). Sas user's Guide: statistics. Statistical Analysis Systems Institute Inc. Cary NC.

Shokrollahi, A., Alizadeh, A., Malekhosseini, Z. and Ranjbar, M. (2011). Removal of bromocresol green from aqueous solution via adsorption on *ziziphus nummularia* as a new, natural, and low-cost adsorbent: kinetic and thermodynamic study of removal process. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 56: 3738-3746.

Sreelatha, G., Ageetha, V., Parmar, J. and Padmaja, P. (2011). Equilibrium and kinetic studies on reactive dye adsorption using palm shell powder (an agro-waste) and chitosan. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 56 (1): 35-42.

Tahir, S.S. and Rauf, N. (2006). Removal of a cationic dye from aqueous solutions by adsorption onto bentonite clay. *Chemosphere*. 63 (11): 1842-1848.

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. and France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*. 48: 185-197.

Zarei Chaleshtori, M., Hosseini, M., Edalatpour, R., Sarif Masud, S.M. and R.R. Chianelli. 2013. New porous titanium–niobium oxide for photocatalytic degradation of bromocresol green dye in aqueous solution. *Materials Research Bulletin*. 48: 3961-3967.

Zohra, B., Aicha, K., Fatima, S., Nourredine, B. and Zoubir, D. (2008). Adsorption of Direct Red 2 on bentonite modified by cetyltrimethylammonium bromide. *Chemical Engineering Journal*. 136(2-3): 295-305.