تحقیقات تولیدات دامی

سال دهم/شماره چهارم/زمستان ۱۴۰۰ (۳۴-۱۹)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه گندم با اعمال روش عمل‌آوری شیمیایی-اکسیداسیون در شرایط آزمایشگاهی برای استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان

مرضیه قربانی[1*]، محمد حسین کیانمهر[2]، اکبر عرب حسینی[3]، احسان سرلکی[1]، علی‌رضا آقاشاهی[4]، علی اسدی الموتی[5]

۱- دانشجوی دکتری مهندسی مکانیک بیوسیستم، گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲- استاد، گروه مهندسی فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۳- دانشیار، گروه مهندسی فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۴- دانشیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۵- استادیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۱/۳۱)

چکیده

در این پژوهش از اکسیدکننده قوی ازن به منظور افزایش لیگنین‌زدایی و از قلیای اوره به عنوان منبع نیتروژنی برای بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه گندم استفاده شد. آزمایش با چهار تیمار و سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تیمارهای آزمایشی کاه گندم شامل: ۱- نمونه بدون عمل‌آوری، ۲- عمل‌آوری شده با اوره (مقدار سه درصد وزنی، ۲۴ ساعت)، ۳- عمل‌آوری شده با ازن (سه گرم بر ساعت، ۴۵ دقیقه)، و ۴- عمل‌آوری شده ترکیبی با ازن (سه گرم بر ساعت، ۴۵ دقیقه) و اوره (سه درصد وزنی، ۲۴ ساعت) بودند. نتایج نشان داد که تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن منجر به بهبود قابل ملاحظه‌ای ($P<0/01$) در ارزش تغذیه‌ای کاه گندم تیمارهای ازن و ازن-اوره نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری شدند. بر اساس نتایج، عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره نسبت به عمل‌آوری با اوره تنها و ازن تنها منجر به کاهش ۱۸/۲۸، ۷/۹۷ و ۵۰ درصدی به ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین، افزایش ۳۳۳/۳، ۲۲/۵، ۲۳/۶۷ و ۳۵/۳۴ درصدی به ترتیب در پروتئین خام، نیتروژن آلی پیوندی، مواد مغذی قابل هضم و ارزش خوراک نسبی شد. همچنین عمل‌آوری با ازن-اوره سبب افزایش ۱۰۰/۲۱، ۶۳/۷۶، ۳۴/۹۳ و ۴۶/۴۳ درصدی به ترتیب در گاز تولیدی (۲۴ ساعت انکوباسیون)، انرژی قابل سوخت و ساز، قابلیت هضم ماده آلی و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری شد. از نتایج پژوهش حاضر می‌توان استباط کرد که روش عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره با روش‌های سنتی و نوین عمل‌آوری قابل مقایسه است و می‌تواند به عنوان جایگزین مناسبی در عمل‌آوری کاه‌های کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اوره، تولید گاز آزمایشگاهی، طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه، کاه گندم، گاز ازن

* نویسندهٔ مسئول: marzie.ghorbani@ut.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.18644.1588

مقدمه

تأمین خوراک دام کافی در کشورهایی مانند ایران که زمین‌های قابل کشت عمدتاً برای تأمین مواد مورد مصرف انسانی اختصاص یافته است، یکی از مهم‌ترین مسائل توسعه دامداری، تولید شیر و گوشت به‌شمار می‌رود. کمبود آب و خشکسالی‌های احتمالی، افزایش قیمت علوفه‌های با کیفیت بالا و تمرکز به استفاده از دانه‌ها برای مصارف انسان، علاقه به استفاده از زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی در تغذیه دام، به ویژه نشخوارکنندگان، را افزایش داده است. کاه غلات، منابع خوراک الیافی ارزان قیمت و فراوانی هستند که به دلیل قابلیت هضم پایین (کمتر از ۵۰۰ گرم بر کیلوگرم)، مصرف آن‌ها در رژیم غذایی نشخوارکنندگان محدود شده است (Beauchemin *et al.*, 2019). طبق آمار سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد، تولید جهانی گندم تا اواخر سال ۲۰۱۹ به میزان ۷۳۰/۸۸ میلیون تن تخمین زده شده که سهم ایران از این مقدار، ۱۳/۴ میلیون تن است (FAO, 2019). با در نظر گرفتن ۱/۳ برابر باقی‌مانده به محصول در غلات، می‌توان انتظار داشت ۱۷/۴۲ میلیون تن محصول جانبی و بیش از ۱۳ میلیون تن کاه گندم (یک کیلوگرم کاه به ازای هر کیلوگرم غله) در ایران تولید شود که می‌تواند سهم بالایی در بخش خوراک دام ایفا کند (Talebnia *et al.*, 2010). کاه گندم از لیگنین (۲۰-۱۵ درصد)، سلولز (۴۰-۳۳ درصد) و همی‌سلولز (۲۵-۲۰ درصد) تشکیل شده است (Talebnia *et al.*, 2010). لیگنین پلیمر پیچیده‌ای است که از سه پیش‌ساز الکل‌های کونیفریل، سیناپیل و کوماریل تشکیل شده و مانند سیمانی محکم بین سلولز و همی‌سلولز قرا گرفته و بر استحکام این ساختار می‌افزاید. سلولز و همی‌سلولز در شکمبه نشخوارکنندگان به وسیله میکروارگانیسم‌های خاصی که قادر به تولید آنزیم سلولاز هستند شکسته و هضم می‌شوند، ولی لیگنین به دلیل وجود برخی پیوندهای کووالانسی آلکیل-آریل، آلکیل-آلکیل، اتصالات قوی کربن-کربن (C-C) و اتر (C-O-C) در محیط بی‌هوازی شکمبه بدون هضم باقی می‌ماند (Jung *et al.*, 1999). در این راستا، روش‌های مختلف عمل‌آوری با هدف افزایش مساحت سطح و تخلخل بستر (سوبسترا)، لیگنین‌زدایی، کاهش بلورینگی سلولز و سست کردن پیوندهای استری همی‌سلولز توسعه یافتند که می‌توانند با افزایش دسترسی به کربوهیدرات‌ها و پروتئین جاسازی شده در ماتریس دیواره سلولی زیست‌توده‌های کشاورزی، قابلیت هضم و انرژی مورد نیاز میکروب‌های شکمبه و آنزیم‌ها را افزایش دهند (سرلکی و همکاران، ۱۳۹۸، ۱۴۰۰؛ Talebnia *et al.*, 2010; Sarlaki *et al.*, 2019). تحقیقات نشان داده‌اند که افزایش کمّی در قابلیت هضم علوفه می‌تواند منجر به دستاوردهای قابل توجهی در بهره‌وری خوراک دام شود. به عنوان مثال، افزایش سه تا پنج درصدی قابلیت هضم آزمایشگاهی علوفه به دلیل اصلاح نباتات، انتخاب ارقام یا اعمال روش‌های عمل‌آوری، با افزایش ۲۴-۱۷ درصدی بهره‌وری خوراک دام و افزایش ۲۵ درصدی ارزش اقتصادی علوفه در ارتباط بوده است (Blümmel and Rao, 2006). عمل‌آوری‌ها به چهار نوع فیزیکی (آسیاب کردن، خرد کردن، فراصوت و پرتودهی)، شیمیایی (اسیدها، قلیاها و عوامل اکسیدکننده)، فیزیکوشیمیایی (انفجار بخار و انفجار الیاف آمونیاک) و زیستی (آنزیم، قارچ و باکتری) طبقه‌بندی می‌شوند (قربانی و همکاران، ۱۳۹۴؛ تاجی‌نیا و همکاران، ۱۳۹۸؛ سرلکی و ابونجمی، ۱۳۹۸؛ Ghorbani *et al.*, 2017). در روش‌های متداول عمل‌آوری معمولاً هیدروکسید سدیم، هیدروکسید کلسیم، اوره و آمونیاک به عنوان قلیا به کاه اضافه و به مدت یک هفته تا چند ماه در محیط بی‌هوازی سیلو می‌شوند. با وجود این که مطالعات زیادی بر مزایا، سادگی و اقتصادی بودن این روش‌ها تأکید دارند، اما فراهمی محیط بی‌هوازی، مدت زمان بسیار طولانی فرآیند، تبخیر شدن بخش عمده قلیا به صورت گاز آمونیاک و به همراه داشتن خطرات سلامتی و ایمنی (زرین و همکاران، ۱۳۹۷؛ Hendriks and Zeeman, 2009; Zarrin *et al.*, 2018)، نیاز به توسعه روش‌های عمل‌آوری جدید با هدف رفع مشکلات مذکور را ایجاد کرد. در این راستا، روش‌های عمل‌آوری انفجار الیاف آمونیاک (مؤسسه بیوتکنولوژی میشیگان با مارک تجاری MBI) و انفجار بخار در بخش خوراک دام با افزایش قابلیت هضم علوفه‌های با کیفیت پایین توسعه و کاربرد تجاری یافتند (Campbell *et al.*, 2020). در روش انفجار بخار، افزایش قابلیت هضم و مصرف ماده خشک در شرایط آزمایشگاهی و درون‌تنی حیوان، افزایش راندمان تبدیل خوراک و میانگین سود روزانه گزارش شده است. همچنین روش انفجار الیاف آمونیاک، افزایش قابلیت هضم ۱۱ علوفه مختلف و محصولات تولید کننده انرژی را نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری به همراه داشته است (Bals *et al.*, 2010).

مطابق نتایج محققان، از معایب دو روش مذکور می‌توان به دما و فشار بالا ($T > 70^{\circ}C$ و $P > 7$ bar)، عدم کارآیی مؤثر در زیست‌توده‌های با محتوای لیگنین زیاد، بازیابی رطوبت نمونه‌ها پس از عمل‌آوری و ایجاد واکنش‌های میلارد به‌دلیل دمای بالای عمل‌آوری اشاره کرد (Zhu *et al.*, 2009). با توجه به مطالب مذکور، نیاز به توسعه یک روش عمل‌آوری جدید با رویکردی تجاری، قابل انجام در دما و فشار پایین و برای زیست‌توده‌هایی با محتوای لیگنین بالا به صورت مجزا یا ترکیبی با روش‌های عمل‌آوری دیگر ضروری به نظر می‌رسد.

ازن‌کافت به عنوان یک روش عمل‌آوری کارآمد و سازگار با محیط‌زیست، در تخریب لیگنین با حداقل آثار بر سلولز و همی‌سلولز، تولید بسیار کم ترکیبات بازدارنده (فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال) و به ویژه انجام آزمایش‌ها در دما و فشار محیط می‌تواند جایگزین مناسبی باشد (قربانی و همکاران، ۱۳۹۸b,c؛ Travaini *et al.*, 2016). در پژوهش‌های پیشین از ازن به منظور افزایش هیدرولیز آنزیمی، تولید سوخت‌های زیستی و رنگ‌بری کاغذ زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی گزارش‌های زیادی انجام شده است (قربانی و همکاران، ۱۳۹۸a؛ Travaini *et al.*, 2016)؛ در حالی که در بررسی میزان هضم‌پذیری الیاف کاه گندم با رویکرد خوراک دامی، تعدادی مطالعه با گاز ازن (حدود سه دهه قبل) انجام گرفته، ولی به دلیل مدت زمان طولانی فرآیند، از نظر اقتصادی توجیه‌پذیر نبوده است (Ben-Ghedalia and Miron, 1981a; Binder *et al.*, 1980). همچنین، گزارش شده است که طی فرآیند ازن‌دهی، تولید اسیدهای آلی (از جمله فرمیک و استیک) می‌توانند باعث کاهش pH از ۶/۵ تا ۲ شوند (Binder *et al.*, 1980). به همین دلیل، معمولاً از قلیاها (NaOH، KOH و H_2O_2) برای افزایش pH نمونه تحت فرآیند ازن‌دهی استفاده می‌کنند که هم آثار کاهش pH را خنثی کند و هم به ازن در تخریب ساختار دیواره سلولی کمک کند (Travaini *et al.*, 2016). اگر چه تحقیقات زیادی در زمینه عمل‌آوری ازن روی زیست‌توده‌های مختلف با هدف تولید سوخت‌های زیستی انجام شده است، اما اطلاعات کافی در مورد بررسی اثر عمل‌آوری ازن بر خوراک دام وجود ندارد. با توجه به مزایای ازن و تأثیرگذاری بالای آن بر ساختار مواد لیگنوسلولزی، در پژوهش حاضر آثار عمل‌آوری اکسنده ازن، قلیای اوره و ترکیب ازن-اوره بر ترکیبات شیمیایی، ارزش تغذیه‌ای، فراسنجه‌های تولید گاز و تغییرات گروه‌های عاملی کاه گندم در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌ها: این پژوهش در کارگاه گروه مهندسی فنی کشاورزی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام شد. کاه‌های گندم (رقم N-81-18) از مزارع استان گلستان (شهرستان گنبد کاووس) تهیه شدند و رطوبت آن‌ها در آون ۴۰ درجه سلسیوس کاهش یافت و تا رسیدن به میانگین هندسی طول ذرات سه میلی‌متر به وسیله آسیاب چکشی-سایشی خرد شدند (ASAE S319.3, 2006). رطوبت اولیه کاه‌ها با گذاشتن ۲۵ گرم نمونه داخل آون ۱۰۳ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت با سه تکرار تعیین شد (ASAE S358.2, 2003). بر اساس مطالعات، پیش آزمون‌های انجام شده و نتایج بهینه قربانی و همکاران (۱۴۰۰)، مبنی بر بررسی تأثیر سطوح مختلف نرخ تولید ازن، نرخ جریان ازن، مقدار اوره، محتوای رطوبت و زمان ازن‌دهی بر درصد لیگنین‌زدایی کاه‌های گندم، در این پژوهش، چهار تیمار آزمایشی با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفتند (قربانی و همکاران، ۱۴۰۰). تیمارها شامل: ۱- کاه گندم بدون عمل‌آوری (در حالت خشک)، ۲- کاه گندم عمل‌آوری شده با اوره (خیساندن به مدت ۲۴ ساعت در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اوره سه درصد)، ۳- کاه گندم عمل‌آوری شده با گاز ازن (خیساندن به مدت ۲۴ ساعت در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سپس قرار گرفتن در معرض گاز ازن)، و ۴- کاه گندم عمل‌آوری شده با ازن-اوره (خیساندن به مدت ۲۴ ساعت در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اوره سه درصد و سپس قرار گرفتن در معرض گاز ازن) بودند.

در روش ازن‌دهی، گاز ازن با روش تخلیه الکتریکی (Corona Discharge) به وسیله ژنراتور ازن (ARION, ODS-1300p, 220v, Iran) از اکسیژن با خلوص بالا (۳ ± ۹۳ درصد) تولید شد و با نرخ تولید ازن برابر با سه گرم بر ساعت با کاه‌های گندم مرطوب (۱۰۰ گرم) از پیش-بارگذاری شده داخل راکتور آزمایشگاهی ازن‌دهی (قطر داخلی ۱۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۴۵ سانتی‌متر) برخورد کرد. پس از ۴۵ دقیقه ازن‌دهی، نمونه‌های کاه در آون ۴۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند و در کیسه‌های پلاستیکی درب‌دار در مکان مناسب تا انجام

آزمون‌های ارزیابی نگه‌داری شدند (قربانی و همکاران، ۱۴۰۰؛ Travaini *et al.*, 2016).

تعیین ترکیبات شیمیایی: اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی نمونه‌ها در آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران انجام شد. مقدار ماده خشک نمونه‌ها با قرارگیری در آون ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت و محتوای خاکستر نمونه‌ها با کوره ۵۵۰ درجه سلسیوس بعد از هشت ساعت اندازه‌گیری شد (AOAC, 1998). مقدار نیتروژن کل به روش کلدال و پروتئین خام از حاصل‌ضرب نیتروژن کل در ۶/۲۵ تعیین شد (AOCS, 2005). محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین نمونه‌ها با روش Van Soest *et al.* (1991) به‌دست آمد. مقدار pH نمونه‌ها با قرار دادن ۰/۵ گرم کاه در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر (نسبت ۱:۲۰) پس از یک ساعت با دستگاه pHسنج (pH meter 340i, German) اندازه‌گیری شد (قاسمی، ۱۳۹۱؛ Sarlaki *et al.*, 2021). مقادیر کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد با استفاده از روابط زیر برآورد شدند (NRC, 2001):

$$TDN\ (\%) = 81.38 + (CP \times 0.36) - (ADF \times 0.77)$$

$$NE_L\ (Mcal/kg) = [(0.0245 \times TDN) - 0.12]$$

$$NE_g\ (MJ/kg) = [(0.029 \times TDN) - 1.01]$$

که در این روابط، TDN کل مواد مغذی قابل هضم (درصد)، CP پروتئین خام (درصد)، ADF الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد)، NE_L انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم) و NE_g انرژی خالص رشد (مگاژول بر کیلوگرم) است.

تجزیه و تحلیل اشکال مختلف پیوند نیتروژن: عملکرد روش‌های عمل‌آوری بر اتصال و تثبیت نیتروژن در محصول نهایی در آزمایشگاه مرکزی پردیس علوم دانشگاه تهران با روابط زیر ارزیابی شدند (Tyhoda, 2008):

$$NH_4^+ - N\ (\%) = \frac{[Acid\ (mL) - Base\ (mL)] \times 1.40067}{Mass\ (g)} \times 100$$

$$NH_2 - N\ (\%) = \frac{[Acid\ (mL) - Base\ (mL)] \times 1.40067 \times 100}{Mass\ (g)} - (NH_4^+ - N)$$

$$Bonded\ organic - N\ (\%) = N_{tot} - [(NH_4^+ - N) + (NH_2 - N)]$$

که در این روابط، N_{tot}، $NH_4^+ - N\ (\%)$، $NH_2 - N$ و Bonded organic − N به ترتیب بیانگر نیتروژن کل از مسیر تجزیه عناصر (درصد)، نیتروژن آمونیومی (درصد)، نیتروژن آمیدی (درصد) و نیتروژن آلی پیوندی (درصد)، مقدار ۱/۴۰۰۶۷ ضریب تصحیح برای M/۱۰ غلظت قلیا مورد استفاده و Mass جرم نمونه بر حسب گرم است.

تعیین ارزش خوراک نسبی: ارزش خوراک نسبی یکی از شاخص‌های کیفیت علوفه است که تخمین‌های قابلیت هضم و مصرف علوفه را به یک عدد واحد تبدیل می‌کند و از برآورد الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمونه‌ها مطابق روابط زیر اندازه‌گیری شد (Jeranyama and Garcia, 2004):

$$DDM\ (\%) = 88.9 - (0.779 \times ADF)$$

$$DMI\ (\%) = 120 / NDF$$

$$RFV = (DDM \times DMI) / 1.29$$

که در این روابط، DDM، DMI و RFV به ترتیب ماده خشک قابل هضم (درصد)، پتانسیل مصرف ماده خشک (درصد) و شاخص ارزش خوراک نسبی (بدون واحد) است.

اندازه‌گیری تولید گاز به روش آزمایشگاهی: اندازه‌گیری تولید گاز به روش آزمایشگاهی در مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور (کرج) انجام شد. مایع شکمبه از ۳سه رأس گاو نر هلشتاین با فیستوله شکمبه دائمی، قبل از خوراک‌دهی صبح به وسیله پمپ خلأ جمع‌آوری و با کنترل دما بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شد. بزاق مصنوعی و مایع شکمبه (نسبت دو به یک) در بالن مخصوص گاز تست مخلوط و گاز دی‌اکسید کربن برای فراهمی محیط بی‌هوازی داخل مخلوط تزریق شد و روی هیتر مغناطیسی با دمای ۳۹ درجه سلسیوس نگهداری شد (McDougall, 1948). ۳۰ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده به ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده در استوانه‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری اضافه و درپوش آن‌ها پلمپ شد. حجم گاز تولیدی بعد از انکوباسیون با دمای ۳۹ درجه سلسیوس با سه تکرار برای هر نمونه و شاهد (مایع شکمبه بدون نمونه برای تصحیح گاز تولید شده به وسیله ذرات باقی‌مانده در مایع شکمبه) اندازه‌گیری شد. در نهایت، حجم کل گاز تولیدی در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$V\ (mL / 200\ g\ DM) = (200 \times (V_t - V_b)) / W$$

که در این رابطه، V حجم گاز تصحیح شده (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، V_t و V_b حجم گاز تولیدی در استوانه‌های شیشه‌ای به ترتیب حاوی نمونه و فاقد نمونه (میلی‌لیتر) و W وزن نمونه (میلی‌گرم) است.

فراسنجه‌های تولید گاز از رابطه نمایی ارسکف و مکدونالد و تصحیح شده به وسیله Blümmel and Becker (1997) که در آن پیشنهاد شده است بخش a حذف شود، به کمک نرم‌افزار Fit Curve و رابطه زیر محاسبه شدند:

$$P = b\ (1 - e^{-ct})$$

که در این رابطه، P حجم تولید گاز از ماده خوراکی در زمان t، b پتانسیل تولید گاز از بخش نامحلول و کند تجزیه‌پذیر (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک خوراکی پس از ۷۲ ساعت انکوباسیون)، c نرخ تولید گاز در هر ساعت برای بخش b و t زمان انکوباسیون (ساعت) است.

همچنین مقادیر ماده آلی قابل هضم آزمایشگاهی و انرژی قابل سوخت و ساز با استفاده از رابطه پیشنهاد شده Menke and Steingass (1988) و میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بر اساس رابطه Getachew *et al.* (2002a) به شکل زیر محاسبه شدند:

$$ME\ (MJ / kg\ DM) = 2.20 + 0.136GP_{24} + 0.0574CP + 0.0029CP^2$$

$$IVOMD\ (\%) = 14.88 + 0.889GP_{24} + 0.45CP + 0.0651Ash$$

$$SCFA\ (mmol / 200\ mg\ DM) = 0.0222GP_{24} - 0.00425$$

که در روابط بالا، ME انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، GP_{24} میزان تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP پروتئین خام (درصد)، IVOMD ماده آلی قابل هضم آزمایشگاهی (درصد)، Ash خاکستر (درصد) و SCFA میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (میلی‌مول بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) است.

طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR): از FT-IR برای تجزیه و تحلیل تغییرات گروه‌های عاملی نمونه‌های کاه گندم قبل و بعد از عمل‌آوری استفاده شد. طیف‌های FT-IR در آزمایشگاه مرکزی پردیس علوم دانشگاه تهران با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Bruker, Tensor 27, Germany) در محدوده مادون قرمز ۴۰۰۰-۶۰۰ (سانتی‌متر$^{-1}$) با ۳۴ اسکن، وضوح چهار (سانتی‌متر$^{-1}$) و روش صفحه پتاسیم برماید (KBr) انجام شد (شریف پاقلعه و همکارن، ۱۳۹۶).

تجزیه و تحلیل آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار استفاده شد. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار اکسل پردازش و با نرم‌افزار SAS 9.0 تجزیه و تحلیل شدند. از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد.

نتایج و بحث

ترکیب‌های شیمیایی: ترکیب شیمیایی نمونه‌های کاه گندم قبل و بعد از عمل‌آوری در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که بیشترین میزان خاکستر و کمترین ماده آلی مربوط به تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره بود که اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) با سه تیمار دیگر داشت. تفاوت در مقدار خاکستر در تیمارهای عمل‌آوری شده کمتر از یک واحد درصد با نمونه بدون عمل‌آوری اختلاف داشت. به نظر می‌رسد که افزایش مقدار خاکستر در این تیمارها به موازات کاهش در مقدار بخش‌های الیافی کاه‌های عمل‌آوری شده باشد که مورد انتظار بود. محققان در بررسی تأثیر سطوح مختلف آمونیاک مایع و گازی (دو، چهار و شش درصد) بر عمل‌آوری کاه گندم، افزایش خاکستر را نسبت به نمونه شاهد مشاهده کردند. آن‌ها گزارش کردند که محتوای خاکستر با افزایش آمونیاک روند افزایشی داشت، همچنین در تیمارهای عمل‌آوری شده با آمونیاک گازی نسبت به آمونیاک مایع در تمام سطوح، بالاتر بود (صادقی و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه‌ای روی کاه برنج از پیش‌فرآوری ترکیبی ازن-آمونیاک مایع برای تولید متان زیستی استفاده کردند. نتایج نشان داد که در مدت زمان ثابت چهار ساعت خیساندن در آمونیاک مایع، با افزایش زمان ازن‌دهی از صفر تا ۷۵ دقیقه، محتوای خاکستر نمونه‌ها نیز روند افزایشی داشت (Ai *et al.*, 2019).

در محتوای ترکیبات دیواره سلولی نیز اختلاف معنی‌داری بین تیمار بدون عمل‌آوری و سه تیمار آزمایشی مشاهده شد، به‌طوری که بیشترین کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی ($P<۰/۰۱$)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ($P<۰/۰۵$) و لیگنین ($P<۰/۰۱$) مربوط به تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره بود که به ترتیب ۱۸/۲۸، ۷/۹۷ و ۵۰ درصد کاهش نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری داشت. مطابق با

نتایج پژوهش‌های دیگر، کاه غنی شده با اوره سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی به دلیل شکسته شدن دیواره سلولی و بر هم خوردن ترکیبات ساختمانی کاه می‌شود (Gebretsadik and Kebede, 2011). همچنین تجزیه لیگنین و شکست اتصالات عرضی به وسیله ازن گزارش شده است که با کاهش قدرت چسبندگی بین میکروالیاف‌های سلولز، افزایش محلولیت لیگنین و همی-سلولز منجر به آزاد شدن سلولز می‌شود و دسترسی آنزیم‌ها به سلولز و همی‌سلولز را بهبود می‌بخشد (Barros *et al.*, 2013). کاهش معنی‌دار و قابل ملاحظه در مقدار لیگنین در تیمارهای حاوی ازن به همراه کاهش pH، حاکی از هیدرولیز گسترده اجزای دیواره سلولی، شکسته شدن پیوند میان سلولز و لیگنین، آزاد شدن همی‌سلولز و تبدیل آن به اسیدهای آلی و قندهای محلول است که کاهش بخش‌های الیافی را توجیه می‌کند.

برخی مطالعات انجام گرفته روی کاه گندم با روش اوره و سیلاژ نشان داده‌اند که در کاربرد اوره سه درصد و ۳۰ روز سیلو، کاهش ۶/۳۷ درصدی در الیاف نامحلول در شوینده خنثی و عدم تغییر در الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (Abebe *et al.*, 2004)، کاربرد اوره سه درصد و ۴۵ روز سیلو، کاهش ۲/۲۴، ۴/۱۶ و ۵/۰۱ درصدی به ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین (Yalchi, 2010) و همچنین، کاربرد اوره چهار درصد و ۲۱ روز سیلو، کاهش ۳/۷۱ و ۴/۶۶ درصدی به ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نسبت به نمونه شاهد مشاهده شده است (دانش، ۱۳۹۰). در این مطالعه، گستردگی شکست لیگنین و کاهش اجزای الیافی در تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره مشابه و هر دو بیشتر از تیمار حاوی اوره بود که حاکی از این است که آثار مشاهده شده در تیمارهای حاوی ازن صرفاً به تأثیر ازن مربوط بوده است.

از طرفی، محققان در بررسی تغییرات ترکیبات ساختاری کاه گندم و کاه پنبه عمل‌آوری شده با ازن در شرایط رطوبت ۴۰ درصد وزنی، اندازه ذرات یک میلی‌متر (کاه گندم) و ۱۰-۵ میلی‌متر (کاه پنبه)، نرخ تولید ازن دو گرم بر ساعت و زمان طولانی ازن‌دهی (تا بی‌رنگ شدن کاه‌ها) گزارش کردند که بیشترین واکنش ازن با همی‌سلولز اتفاق افتاد و مقدار همی‌سلولز، سلولز و لیگنین به ترتیب ۶۳، ۱/۱۶ و ۲۱/۵۵ درصد در کاه گندم و ۵۳/۷۵، ۴/۴۹ و ۳۹/۷۸ درصد در کاه پنبه کاهش یافتند (Ben-Ghedalia and Miron, 1981a; Miron and Ben-Ghedalia, 1981). در تحقیقی دیگر از پیش‌فرآوری ترکیبی ازن-آمونیاک مایع برای افزایش بازده متان زیستی در شرایط رطوبتی ۴۰ درصد وزنی، غلظت ازن ۰/۳۵ میلی‌گرم بر لیتر و نرخ تولید ازن ۱۰ گرم بر ساعت استفاده کردند و دریافتند که پیش-فرآوری بدون خیساندن نمونه‌ها در آمونیاک مایع مؤثر نیست. از طرفی، در یک زمان ثابت ازن‌دهی (۴۵ دقیقه) با افزایش زمان خیساندن کاه در آمونیاک مایع (دو تا ۱۰ ساعت)، یک افزایش مداوم در محتوای سلولز از ۵۳/۲۸ درصد (نمونه بدون پیش‌فرآوری) تا ۶۳/۵۴ -۵۸/۰۱ درصد (نمونه پیش‌فرآوری شده) و یک کاهش در همی‌سلولز از ۴۱/۱۳ درصد (نمونه بدون پیش‌فرآوری) تا ۳۰/۳۴-۳۳/۸۴ درصد (نمونه‌های پیش‌فرآوری شده) گزارش شده است. همچنین بیان شده است که اعمال پیش‌فرآوری ترکیبی ازن-آمونیاک مایع، باعث افزایش تولید گاز زیستی از کاه برنج به میزان ۱۷۲/۸-۱۱۴/۲ درصد در مقایسه با کاربرد ازن تنها و ۳۹/۹-۲۸/۸ درصد در مقایسه با کاربرد آمونیاک مایع شد و نه ساعت خیساندن در آمونیاک مایع و ۹۰ دقیقه ازن‌دهی را به عنوان نقطه بهینه فرآیند معرفی کردند (Ai *et al.*, 2019).

مطابق جدول ۱، مقدار pH تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) نسبت به تیمار بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده با اوره کاهش یافت. دلیل این پدیده را مطابق نظر پژوهشگران می‌توان این‌گونه بیان کرد که ازن نسبت به ترکیبات حاوی پیوندهای دوگانه و گروه‌های عاملی با تراکم الکترونی بالا بسیار واکنش‌پذیر است و به لیگنین آزاد شده از ترکیبات محلول با وزن مولکولی پایین حمله و به‌طور عمده اسیدهای آلی مانند اسید فرمیک و استیک تولید می‌کند که منجر به کاهش pH از ۶/۵ به ۲ می‌شود (قربانی و همکاران، ۱۴۰۰؛ Binder *et al.*, 1980; Travaini *et al.*, 2016). با توجه به اینکه اعمال اوره سه درصد در تیمار عمل‌آوری شده با اوره، افزایش معنی‌داری در pH نمونه شاهد ایجاد نکرد ($P>0/05$)، مقدار اوره سه درصد در تیمار ترکیبی ازن-اوره نیز نتوانست از کاهش قابل ملاحظه pH در اثر ازن‌دهی نسبت به تیمار عمل‌آوری شده با ازن جلوگیری کند. محققان در استفاده از ازن دو گرم بر ساعت برای کاه گندم،

کاهش pH از ۶/۰۶ به ۲/۳۰ را گزارش کردند، ولی در مقابل، سطح قندهای احیاء کننده از ۲/۲۰ به ۱۵/۶ افزایش یافت. همچنین، آن‌ها در مطالعه دیگر روی کاه پنبه روند مشابهی را در کاهش pH از ۵/۵۶ به ۲/۲۵ مشاهده و گزارش کردند که محصولات اصلی تخریب لیگنین به وسیله ازن، ترکیبات فنلی نیستند بلکه اسیدهای آلی هستند (Ben-Ghedalia and Miron, 1981a; Miron and Ben-Ghedalia, 1981).

پروتئین خام به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) در تیمار عمل‌آوری شده با اوره (۲۳۳/۳ درصد)، عمل‌آوری شده با ازن (۲۸۴/۸ درصد) و عمل‌آوری شده با ازن-اوره (۳۳۳/۳ درصد) نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری افزایش یافت (جدول ۱). نتایج تجزیه و تحلیل نوع پیوند نیتروژنی، یک روند کاهشی در نیتروژن آمونیومی و یک روند افزایشی در دو نوع نیتروژن آمیدی و پیوندی در نمونه‌های عمل‌آوری شده نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری را نشان داد. از نتایج قابل ملاحظه این پژوهش، افزایش ۹۴/۳ درصدی نیتروژن آمیدی و ۲۲/۵ درصدی نیتروژن پیوندی در عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری است. محققان گزارش کردند که عمل‌آوری علوفه‌های کیفیت پایین با اوره، موجب افزایش پروتئین خام می‌شود (Sarwar *et al.*, 2002). میزان افزایش پروتئین مطالعه حاضر با اوره سه درصد، با نتایج پژوهشگران که از اوره برای غنی‌سازی کاه استفاده کردند، مطابقت دارد (Khejornsart and Wanapat, 2010; Milad *et al.*, 2010). در تحقیقی با هدف بررسی تأثیر عمل‌آوری ازن و هیدروکسید سدیم بر سوخت و ساز شکمبه، قابلیت هضم دیواره‌های سلولی و مواد آلی کاه پنبه گزارش کردند که با وجود تولید اسید فرمیک در نمونه عمل‌آوری شده با ازن، سوخت و ساز نیتروژن دچار اختلال نشد. جذب ظاهری نیتروژن از روده و قابلیت هضم ظاهری نیتروژن در جیره غذایی عمل‌آوری شده با ازن بیشتر از جیره بدون عمل‌آوری یا عمل‌آوری شده با هیدروکسید سدیم بود، به‌طوری که قابلیت هضم ظاهری مواد آلی در جیره غذایی عمل‌آوری شده با ازن به ترتیب ۱/۲۵ و ۱/۱۷ برابر بیشتر از جیره‌های غذایی بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده با هیدروکسید سدیم بود (Ben-Ghedalia *et al.*, 1983).

مطابق جدول ۱، فرآوری کاه با ازن با کاهش اجزای دیواره سلولی و تبدیل آن به بخش‌های کربوهیدراتی محلول و اسیدهای آلی، کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی خالص رشد برآورد شده را بهبود داد و مصرف ماده خشک پیش‌بینی شده را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد ($P<0/01$).

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کاه‌های گندم بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده (اوره، ازن و ازن-اوره)

Table 1. Chemical composition of untreated and treated (urea, ozone, ozone-urea) wheat straws

Compounds (% DM)	Treatments*				SEM	*P*-value
	1	2	3	4		
DM	95.51^{c}	95.82^{ab}	96.04^{a}	95.74^{bc}	0.14	<0.05
OM	89.00^{a}	89.90^{a}	88.70^{a}	88.30^{b}	0.20	<0.05
Ash	11.00^{b}	11.10^{b}	11.30^{b}	11.70^{a}	0.20	<0.05
NDF	82.60^{a}	80.30^{b}	69.90^{c}	67.50^{d}	0.39	<0.01
ADF	65.20^{a}	64.10^{ab}	58.00^{c}	60.00^{bc}	2.62	<0.05
ADL	16.40^{a}	15.60^{b}	9.80^{c}	8.20^{d}	0.40	<0.01
pH	5.99^{a}	6.04^{a}	2.62^{b}	2.64^{b}	0.06	<0.01
CP	3.03^{d}	10.10^{c}	11.66^{b}	13.13^{a}	0.22	<0.01
$NH_4^+ - N$	31.80^{a}	27.30^{b}	20.43^{c}	8.57^{d}	0.17	<0.01
$NH_2 - N$	11.00^{d}	13.43^{c}	15.27^{b}	21.37^{a}	0.14	<0.01
Bonded organic − N	57.20^{d}	59.27^{c}	64.30^{b}	70.07^{a}	0.12	<0.01
TDN	32.27^{b}	35.66^{b}	40.92^{a}	39.91^{a}	2.04	<0.01
NE_L (Mcal/kg)	0.67^{b}	0.75^{b}	0.88^{a}	0.86^{a}	0.05	<0.01
NE_g (MJ/kg)	0.00^{b}	0.04^{b}	0.17^{a}	0.15^{a}	0.03	<0.01
DDM	38.11^{c}	38.96^{bc}	43.72^{a}	42.16^{ab}	2.05	<0.05
DMI	1.45^{d}	1.50^{c}	1.72^{b}	1.78^{a}	0.01	<0.01
RFV	42.93^{b}	45.14^{b}	58.18^{a}	58.10^{a}	2.57	<0.01

* 1. Untreated, 2. treated with urea (3% w/w, 24 h), 3. treated with ozone (3 g/h, 45 min), 4. treated with ozone (3 g/h, 45 min) and urea (3% w/w, 24 h).

[a-d] Means within a row with different superscripts differ significantly ($P< 0.05$). SEM: Standard error of the means

در واقع، کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی و افزایش پروتئین کاه در اثر عمل‌آوری می‌تواند یکی از دلایل افزایش تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و افزایش مصرف به وسیله نشخوارکنندگان باشد. این بهبود پتانسیل، محدودیت‌های مربوط به مصرف کاه گندم در جیره دام‌های پرتولید و سریع‌الرشد را تا حد زیادی کاهش داده و از طرفی می‌تواند به عنوان یک علوفه جایگزین در شرایط کمبود علوفه در اقلیم‌های خشک و کم آب مورد استفاده قرار بگیرد. با این حال، قابلیت استفاده از این فناوری و اقتصادی بودن آن باید در آزمایش روی دام زنده اثبات شود.

تولید گاز آزمایشگاهی: حجم گاز تولیدی یک فراسنجه مناسب برای پیش‌بینی قابلیت هضم، تخمیر و ساخت پروتئین میکروبی شکمبه از سوبسترا در سیستم آزمایشگاهی است و با قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، مصرف خوراک و سرعت رشد در حیوان همبستگی بالایی دارد (دانش، ۱۳۹۰؛ قاسمی، ۱۳۹۱). روند گاز تولیدی تیمارهای آزمایشی در زمان‌های مختلف انکوباسیون در جدول ۲ نشان می‌دهد که بیشترین تولید گاز تا زمان ۲۴ ساعت مربوط به تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره است و بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، مقدار حجم گاز تولیدی تیمار عمل‌آوری شده با ازن پیشی می‌گیرد. به‌طور کلی روش‌های عمل‌آوری با افزایش شکنندگی دیواره سلولی باعث افزایش قابلیت هضم می‌شوند و کاهش تولید گاز تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون نسبت به تیمار عمل‌آوری شده با ازن را می‌توان به آزادسازی ترکیبات مهارکننده در اثر اعمال عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره نسبت داد که ممکن است این ترکیبات به دلیل عدم شستشوی نمونه‌ها بعد از عمل‌آوری در خوراک باقی‌مانده باشند، زیرا در طول فرآیند ازن‌دهی، محصولات اولیه اکسید شده با ازن ممکن است در ادامه با ازن اضافی واکنش نشان دهند و محصولات تخریب لیگنین که شامل طیف گسترده‌ای از ترکیبات حلقوی و چند حلقوی هستند، ممکن است در فرآیند ازن‌دهی به اسیدهای کربوکسیلیک تبدیل شوند. همچنین، گزارش شده است که در طول فرآیند ازن‌دهی، با تخریب قند عمدتاً مقدار اندکی اسیدهای اگزالیک، فرمیک، استیک و لوولینیک تولید می‌شود که می‌توانند نقش مهارکننده داشته باشند (Travaini *et al.*, 2016).

تولید گاز بالا نشان‌دهنده بالا بودن انرژی قابل سوخت و ساز، نیتروژن قابل تخمیر و مواد مغذی مورد نیاز برای فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه است (Singh and Deol, 1985). در نتیجه، مقدار و نرخ تولید گاز می‌تواند بیانگر نرخ تجزیه کربوهیدرات‌ها به ویژه کربوهیدرات‌های ساختمانی باشد. در مطالعه حاضر، بالا بودن تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره نسبت به تیمار بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده با اوره می‌تواند با تفاوت‌های قابل توجه در محتوای دیواره سلولی تیمارها توضیح داده شود که با افزایش محلولیت الیاف دیواره سلولی در تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره سازگار است (جدول ۱). از یک طرف، عمل‌آوری با آمونیاک و اوره زنجیره‌های جانبی استرها و گلیکوزیدها را تخریب کرده و با اصلاح ساختار لیگنین، تورم و کاهش بلورینگی سلولز و محلولیت همی‌سلولز، باعث افزایش فعالیت تجزیه‌کنندگی میکروب‌ها می‌شود (Kumar and Sharma, 2017) و از طرف دیگر، هسته‌های آروماتیک مولکول لیگنین به حمله اکسیداتیو کاملاً حساس هستند و ازن می‌تواند با لیگنین واکنش‌پذیری بالایی نشان دهد. به همین جهت، تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره توانسته است درصد بالایی از محتوای دیواره سلولی را نسبت به تیمار عمل‌آوری شده با اوره تنها و ازن تنها کاهش دهد و لیگنین‌زدایی بالایی به همراه داشته باشد.

با عمل‌آوری کاه گندم، بخش b در معادله تولید گاز، کاهش اما ضریب نرخ تولید گاز افزایش یافت. این مشاهده در توافق با افزایش بیش از ۱۵ برابری تولید گاز در شش ساعت اول در تیمار عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره نسبت به تیمار بدون عمل‌آوری است. در معادله مورد استفاده برای برآورد پتانسیل تولید گاز، بخش a که به عنوان بخش سریع محلول در معادلات تجزیه‌پذیری است، حذف شد چون اندازه‌گیری تولید گاز در زمان صفر انکوباسیون ممکن نیست. اما از آنجا که در این مطالعه، فرآوری با ازن باعث افزایش قابل ملاحظه تولید گاز در ساعات اولیه تخمیر شد، سرعت تولید گاز در واحد زمان به شدت افزایش یافت که حاکی از محلول شدن و تجزیه پلیمرهای کربوهیدراتی اجزای دیواره سلولی به قندهای محلول و در نتیجه تولید سریع گاز است. این نتیجه با افزایش قابلیت هضم ماده آلی از ۲۵/۲۹ درصد در تیمار بدون عمل‌آوری به ۳۸/۲۴ درصد در تیمار عمل‌آوری شده ترکیبی ازن-اوره هم‌خوانی دارد.

جدول ۲- حجم گاز تولیدی (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک) و فراسنجه‌های تخمیر تولید گاز آزمایشگاهی کاه گندم بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده (اوره، ازن، ازن-اوره)

Table 2. The volume of gas produced (mL/200 mg DM) and fermentation parameters of *in vitro* gas production for untreated and treated (urea, ozone, ozone-urea) wheat straw

	Treatments*				SEM	*P*-value
	1	2	3	4		
Gas (mL/200 mg DM) produced at time (h)						
2	0.00^{c}	1.09^{b}	1.10^{b}	2.19^{a}	0.44	<0.01
4	0.12^{c}	1.56^{b}	2.04^{b}	4.54^{a}	0.37	<0.01
6	0.47^{d}	2.18^{c}	3.61^{b}	6.73^{a}	0.39	<0.01
8	2.03^{d}	4.05^{c}	5.80^{b}	8.61^{a}	0.60	<0.01
12	2.35^{d}	4.37^{c}	5.96^{b}	9.55^{a}	0.61	<0.01
24	9.38^{d}	12.80^{c}	16.95^{b}	18.78^{a}	0.75	<0.01
48	28.59^{d}	32.32^{c}	39.72^{a}	35.52^{b}	1.17	<0.01
72	35.15^{d}	38.54^{c}	46.93^{a}	42.41^{b}	1.71	<0.01
b	131.72^{a}	95.70^{ab}	96.76^{ab}	65.33^{b}	18.41	<0.05
c	0.005^{c}	0.008^{b}	0.010^{b}	0.015^{a}	0.001	<0.01
$IVOMD_{24}$ (%)	25.29^{d}	31.52^{c}	35.93^{b}	38.24^{a}	0.71	<0.01
ME (MJ/kg DM)	3.67^{d}	4.82^{c}	5.57^{b}	6.01^{a}	0.11	<0.01
SCFA (mmol/200 mg DM)	0.20^{d}	0.28^{c}	0.37^{b}	0.41^{a}	0.01	<0.01

* 1. Untreated, 2. treated with urea (3% w/w, 24 h), 3. treated with ozone (3 g/h, 45 min), 4. treated with ozone (3 g/h, 45 min) and urea (3% w/w, 24 h).

[a-d] Means within a row with different superscripts differ significantly ($P< 0.05$). SEM: Standard error of the means

جدول ۲ نشان می‌دهد که مقدار انرژی قابل سوخت و ساز، ماده آلی قابل هضم آزمایشگاهی در ۲۴ ساعت انکوباسیون و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در تیمارهای عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره دارای اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) با تیمار بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده با اوره بودند. بیشترین مقادیر ترکیبات مذکور در تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره مشاهده شد که به ترتیب ۴۵/۱۷، ۳۴/۹۳ و ۴۶/۴۳ درصد افزایش نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری داشت. محققان در بررسی اثر ترکیبی ازن و منابع سلولاز بر ماده آلی قابل هضم کاه گندم و پنبه در شرایط آزمایشگاهی، به ترتیب ۴۷ و ۱۱۹/۶۰ درصد افزایش بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون با مایع شکمبه و ۲۴۶/۳۶ و ۱۳۵/۱۰ درصد افزایش در شش ساعت اولیه انکوباسیون در کاه گندم و پنبه نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری گزارش کردند. آن‌ها ازن‌دهی را تا زمان بی‌رنگ شدن کاه با نرخ حداکثر تولید ازن (دو گرم بر ساعت) از هوا و محتوای رطوبت ۴۰ درصد وزنی انجام دادند (Ben-Ghedalia and Miron, 1981b; Miron and Ben-Ghedalia, 1981). میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره به‌طور قابل ملاحظه‌ای ($P<۰/۰۱$) بیشتر از تیمارهای دیگر است. با توجه به اینکه در شرایط آزمایشگاهی، در طول انکوباسیون خوراک در مایع شکمبه، کربوهیدرات‌ها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و گازها (به‌طور عمده CO_2 و CH_4) تخمیر می‌شوند و همبستگی نزدیکی بین تولید گاز ناشی از انکوباسیون کاه غلات و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر آن‌ها بر اساس تخمیر کربوهیدرات‌ها وجود دارد (Getachew *et al.*, 2002b)، بنابراین انتظار می‌رود انرژی بیشتری در دسترس نشخوارکننده قرار گیرد.

در مقایسه بین نتایج تحقیق حاضر با روش‌های متداول و نوین عمل‌آوری گزارش شده است که در کاربرد اوره سه درصد و ۴۵ روز سیلو کاه گندم در دمای محیط، کاهش ۲/۲۴، ۴/۱۶ و ۵/۰۱ درصد ب ه‌ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین، افزایش ۸۵/۸۵ و ۶/۱۹ درصد به ترتیب در پروتئین خام و ماده آلی قابل هضم آزمایشگاهی و در کاربرد آمونیاک سه درصد و ۴۵ روز سیلوی کاه گندم، کاهش ۱/۸۰، ۳/۱۰ و ۲/۳۹ درصدی به ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و لیگنین، افزایش ۴۸/۱۱ و ۳/۹۶ درصدی به ترتیب در پروتئین خام و ماده آلی قابل هضم آزمایشگاهی گزارش شده است (Yalchi, 2010). محققان در روش عمل‌آوری انفجار الیاف آمونیاک با محتوای رطوبت ۶۰ درصد وزنی، دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس، زمان ۳۰ دقیقه و مقدار آمونیاک ۵۰ درصد وزنی روی باگاس نیشکر، کاهش ۱۰/۰۲ و ۴/۰۴ درصدی به

ترتیب در محتوای الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، افزایش ۳۵۰، ۳۷/۴۵، ۱۳/۰۴، ۶۲/۱۶ و ۱۴/۰۹ درصدی به ترتیب در پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون، مقدار کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی قابل سوخت و ساز مشاهده کردند (Mokomele *et al.*, 2018). همچنین در روش عمل‌آوری انفجار بخار با ۶۵ درصد وزنی محتوای رطوبت، دمای ۲۰۵ درجه سلسیوس، زمان ۱۳/۵ دقیقه و فشار ۳۰ بار روی باگاس نیشکر، کاهش ۱۱/۳۷ درصد در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، افزایش ۳۲/۱۵، ۲۹/۱۶، ۷۵/۳۶، ۲۶/۰۹، ۹۶/۶۲ و ۷/۰۴ درصدی به ترتیب در الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، پروتئین خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون، مقدار کل مواد مغذی قابل هضم، انرژی خالص شیردهی و انرژی قابل سوخت و ساز گزارش کردند (Mokomele *et al.*, 2018). در تحقیقی دیگر با روش عمل‌آوری انفجار بخار از فشار ۲۰ بار، دمای ۲۰۰ درجه سلسیوس و زمان پنج دقیقه برای تعیین هضم‌پذیری کاه ذرت، گندم و برنج استفاده شد و به کاهش ۳۳/۰۹، ۲۵/۵۵ و ۲۵/۲۴ درصدی در الیاف نامحلول در شوینده خنثی، کاهش ۵/۶۷ و افزایش ۹/۴۹ و ۲/۹۱ درصدی الیاف نامحلول در شوینده اسیدی، افزایش ۱۸/۸۳، ۳۲/۳۹ و ۸۲/۶۲ درصدی در لیگنین، افزایش ۳۳/۵۵، کاهش ۱۷/۳۵ و ۱/۷۵ درصدی در پروتئین خام، افزایش ۲۸/۵۴، ۶/۴۰ و ۳۹/۷۴ درصدی در مقدار تولید گاز خالص بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون به ترتیب در کاه ذرت، کاه گندم و کاه برنج دست یافتند (He *et al.*, 2015).

طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR): طیف‌سنجی FTIR برای تحلیل ساختار شیمیایی عناصر تشکیل دهنده کاه گندم و نیز تغییرات رخ داده در ساختار آن در اثر اعمال عمل‌آوری‌های مختلف، روشی مفید و ارزشمند است. نتایج حاصل از طیف‌سنجی مادن قرمز تبدیل فوریه در محدوده ۴۰۰۰-۶۰۰ (سانتی‌متر$^{-1}$) در شکل ۱ نمایش داده شده است. موقعیت باندهای جذبی مربوط به ترکیبات دیواره سلولی (سلولز، همی‌سلولز و لیگنین) تیمارهای آزمایشی با شناسایی نه اوج در ناحیه جذبی انجام شد. افزایش ارتعاشات، تغییر شکل، خمش و کشش در پیوندهای یگانه، دوگانه و حلقه‌های آروماتیک بین کربن، اکسیژن، هیدروژن و نیتروژن نشان‌دهنده تأثیر بالای عمل‌آوری‌ها بر ساختار پیوندها است که به دلیل عدم شستشوی نمونه‌ها بعد از عمل‌آوری، شدت ارتعاشات بسیاری از این پیوندها افزایش یافته است (Sipponen and Österberg, 2019; Sarlaki *et al.*, 2020).

مطابق جدول ۳، در بیشتر طول موج‌های طیف، تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره دارای اوج ناحیه جذبی بیشتری نسبت به سایر تیمارها است که بر کارآیی بالای عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره بر تغییرات ساختاری همی‌سلولز، سلولز و مونومرهای لیگنین دلالت دارد. تخریب حلقه‌های آروماتیک و تشکیل آلدئیدها و کتون‌ها در طیف FT-IR نمونه خاک اره صنوبر لرزان (Aspen sawdust) ازن‌دهی شده (Mamleeva *et al.*, 2009) و تغییرات قابل توجه در شدت اوج مربوط به ارتعاشات اسکلتی آروماتیک ناشی از تخریب لیگنین در کاه گندم عمل‌آوری شده با ازن به وسیله طیف-سنجی FT-IR گزارش شده است (Kádár *et al.*, 2015).

مطابق جدول ۳، شدت باندهای جذبی در ناحیه ۹۰۰-۸۸۷ و ۱۱۷۰-۱۱۵۰ به ترتیب متعلق به پیوندهای β-گلیکوزیدی سلولز و ارتعاشات C-O-C سلولز و همی‌سلولز است که نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری، در تیمار عمل‌آوری شده با اوره، کاهش، در تیمار عمل‌آوری شده با ازن، تقریباً ثابت و در تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره، افزایش یافت. گزارش شده است که ازن از مسیر واکنش با رادیکال‌های هیدروکسیل و تشکیل سوپراکسید، باعث ایجاد شکاف تصادفی در پیوندهای گلیکوزیدی می‌شود (Bule *et al.*, 2013). اوج ناحیه ۱۲۶۸-۱۲۲۰ تنها در دو تیمار حاوی اوره (عمل‌آوری شده با اوره و ترکیب ازن-اوره) ایجاد شد که می‌توان اوره را عامل افزایش دم‌زنی حلقه سیرینگیل و کشش C-O لیگنین و زایلان بیان کرد. باندهای نیتروژن در طول موج‌های ۱۳۴۰-۱۳۱۰، مربوط به آمید نوع سوم (خمش N-H همراه با کشش C-N به علاوه تغییر شکل C-H و N-H) و محدوده ۱۶۶۰-۱۵۹۰ مربوط به ایمین (کشش C = N)، جذب بیشتری در نمونه-های عمل‌آوری نشان دادند که روند افزایشی تیمارها با مقادیر نیتروژن آمیدی گزارش شده در جدول ۱ کاملاً منطبق است. اوج ناحیه جذبی ۱۷۶۰-۱۷۱۷ نشان‌دهنده شکست اتصالات عرضی بین زنجیره جانبی همی‌سلولز و لیگنین است که تیمار عمل‌آوری شده با ازن و ترکیب ازن-اوره باعث افزایش پیوندهای استری (مربوط به گروه‌های کربونیل) شده است که با کاهش pH دو تیمار ازن‌دهی شده

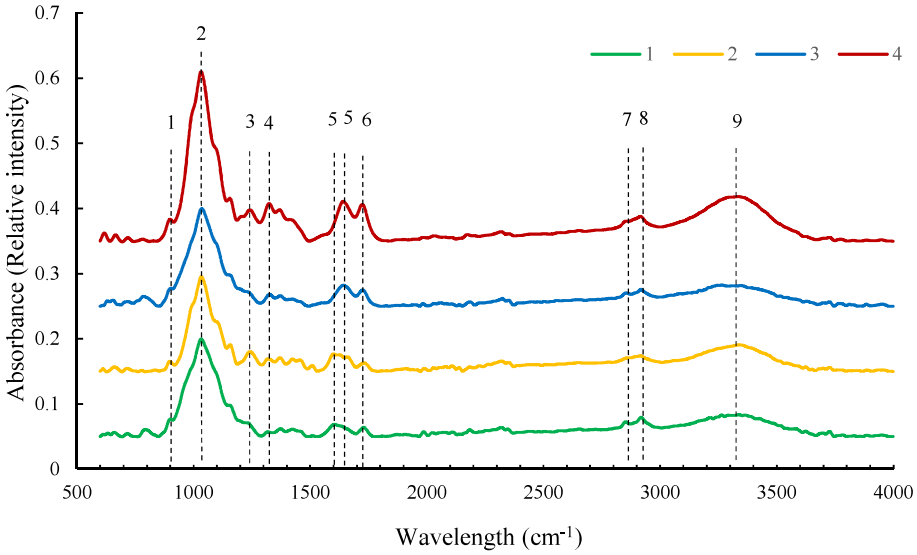
(تیمار ۳ و ۴) از راه افزایش شدت جذب کشش کربونیل C=O گروه‌های استیل و کربوکسیلیک مطابقت دارد. محققان گزارش کردند که شرایط اسیدی تأثیر بیشتری بر شکستن پیوندهای پلی‌ساکاریدی و پیوندهای β-گلیکوزیدی همی‌سلولز و افزایش کربوهیدرات‌های محلول دارد (قاسمی، ۱۳۹۱)، که با نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش محتوای دیواره سلولی (همی‌سلولز، سلولز و لیگنین) در نتیجه کاهش pH هماهنگی دارد (جدول ۱). هم‌چنین، گزارش شده است که واکنش اکسیداسیون جزئی لیگنین و همی‌سلولز منجر به تشکیل اسیدهای کربن آلیفاتیک، ترکیبات کربونیل و کربوکسیل می‌شود (Bule *et al.*, 2013). همچنین نتایج طیف‌سنجی FT-IR محققان روی لیگنین‌زدایی کاه گندم با ازن، کاهش قابل توجهی در ساختار حلقه‌های آروماتیک و افزایش گروه‌های عاملی کربنیل نشان داد (Bule *et al.*, 2013). اوج ناحیه جذبی محدوده ۳۰۰۰-۲۸۳۰ نشان از افزایش کشش باند هیدروکربنی C-H در تیمار عمل‌آوری شده با ازن-اوره و اوج ناحیه جذبی ۳۴۰۰-۳۲۰۰ بیانگر ازیاد یا تشکیل پیوندهای هیدروژنی در میکروالیاف‌های سلولز تیمارهای عمل‌آوری شده با اوره و ترکیب ازن-اوره نسبت به نمونه بدون عمل‌آوری است. محققان در بررسی طیف FT-IR زیست‌توده‌های ازن‌دهی شده دریافتند که واکنش ازن می‌تواند با پیوندهای C-H در ساختار نوع آلدئید، الکل و اتر انجام شود. این واکنش همچنین در شکاف پیوند اتر برای آریل و آلکیل رخ می‌دهد (Olkkonen *et al.*, 2000).

جدول ۳- موقعیت باندهای جذبی FT-IR کاه گندم بدون عمل‌آوری و عمل‌آوری شده (ازن، اوره و ازن-اوره)

Table 3. Band assignment of FTIR spectra for untreated and treated (urea, ozone, ozone-urea) wheat straw

Peak Number	Peak assignment in references	Peak assignment in research	Peak intensity				Attribution and description of FTIR absorption
			1	2	3	4	
1	887-900	896-899	0.0265	0.0157	0.0271	0.0335	Characteristic of β-glycosidic C–H deformation with a ring vibration (Cellulose)
2	1150-1170	1152-1157	0.0481	0.0410	0.0482	0.0657	C–O–C vibration (cellulose and hemicellulose)
3	1220-1268	1221-1242	-	0.0303	-	0.0478	Guaiacyl ring C-O stretching (Change in lignin monomer)
4	1310-1340	1318-1326	0.0072	0.0193	0.0180	0.0574	Amide III (N–H in-plane bending coupled with C–N stretching plus C–H and N–H deformation); Syringyl ring C-O stretching (Change in lignin monomer)
5	1590-1660	1601-1642	0.0185	0.0266	0.0322	0.0610	Imine (Shiff base) C=N stretching, C=C aromatic skeletal vibration (Lignin)
6	1717-1760	1723-1731	0.0142	0.0129	0.0249	0.0562	Ester-linked acetyl, feruloyl and p-coumaroyl groups, C=O stretching, unconjugated carbonyl (hemicellulose and lignin)
7	2830-3000	2852-2867	0.0229	0.0209	0.0203	0.0308	C–H stretching, methyl, and methylene groups (CH_3, CH_2)
8	2906-2950	2916-2918	0.0296	0.0240	0.0257	0.0379	C-H stretching (Cellulose)
9	3200-3400	3335-3344	0.0337	0.0407	0.0316	0.0683	O-H stretching vibrations of polymer (Cellulose)

1. Untreated, 2. Treated with urea (3% w/w, 24 h), 3. Treated with ozone (3 g/h, 45 min), 4. Treated with ozone (3 g/h, 45 min) and urea (3% w/w, 24 h)



شکل ۱- طیف FT-IR نمونه‌های کاه گندم: ۱- بدون عمل‌آوری، ۲- عمل‌آوری شده با اوره (۳ درصد وزنی، ۲۴ ساعت)، ۳- عمل‌آوری شده با ازن (۳ گرم بر ساعت، ۴۵ دقیقه)، ۴- عمل‌آوری شده با ازن (۳ گرم بر ساعت، ۴۵ دقیقه) و اوره (۳ درصد وزنی، ۲۴ ساعت)

Fig. 1. FT-IR spectra of wheat straw: 1. Untreated, 2. Treated with urea (3% w/w, 24 h), 3. Treated with ozone (3 g/h, 45 min), 4. Treated with ozone (3 g/h, 45 min) and urea (3% w/w, 24 h)

نتیجه‌گیری کلی

تولیدات انبوه و اجتناب‌ناپذیر زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی در جهان را می‌توان با استفاده از روش‌های عمل‌آوری کارآمد به داخل چرخه‌های طبیعی هدایت و از پتانسیل بالای این محصولات فرعی کشاورزی در بخش‌های مختلف از جمله خوراک دام استفاده بهینه نمود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که روش عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره (مقدار اوره سه درصد وزنی، رطوبت ۱۰۰ درصد وزنی و ۲۴ ساعت خیساندن، نرخ تولید ازن سه گرم بر ساعت و مدت زمان ازن‌دهی ۴۵ دقیقه) باعث افزایش قابل ملاحظه‌ای در محلولیت دیواره سلولی، ارزش تغذیه‌ای و فراسنجه‌های تولید گاز شد. هم‌چنین، مقایسه نتایج پژوهش حاضر با روش‌های عمل‌آوری سنتی (اوره و سیلاژ) و نوین (انفجار بخار و انفجار الیاف آمونیاک) زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی با رویکرد خوراک دامی نشان می‌دهد که عمل‌آوری ترکیبی ازن-اوره در شرایط دمای محیط، فشار اتمسفر و مدت زمان کوتاه فرآیند به عنوان روشی موفق در بهبود هضم‌پذیری کاه گندم در شرایط آزمایشگاهی تأیید شد.

تشکر و قدردانی

از مسئول کارگاه گروه مهندسی فنی کشاورزی (مهندس سهرابی) به دلیل همکاری در ساخت تجهیزات، کارشناس آزمایشگاه تغذیه گروه علوم دامی پردیس ابوریحان دانشگاه تهران (مهندس قندی) به دلیل مشارکت و در دسترس قرار دادن مواد شیمیایی و مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور به منظور فراهم کردن شرایط لازم برای انجام آزمایش‌ها تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

تاجی‌نیا ر.، کیانمهر م. ح.، سرلکی ا.، شریف پاقلعه ع.، و میر سعید قاضی ح. ۱۳۹۸. استخراج هیومیک اسید از پسماندهای کمپوست قارچ به‌کمک تیمار قلیایی و فراپالایش غشایی. مهندسی بیوسیستم ایران، ۵۰(۴): ۸۴۷-۸۶۱.

دانش س. م. ۱۳۹۰. تعیین ارزش غذایی کاه غلات و حبوبات و اثر عمل‌آوری کاه گندم با اوره یا آمونیاک بر میزان مصرف، قابلیت هضم و پارامترهای تخمیری در گوسفند بلوچی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

سرلکی ا.، و ابونجمی م. ۱۳۹۸. اصالت‌سنجی و تشخیص تقلب مواد غذایی بر اساس تکنیک‌های انگشت‌نگاری و ابزارهای شیمی‌سنجی. بهداشت مواد غذایی، ۹(۳): ۸۹-۱۱۲.

سرلکی ا.، سخندان توماج م.، شریف پاقلعه ع.، کیانمهر م. ح.، و نیکوصفت ا. ۱۳۹۸. استخراج هیومیک اسید از زغال‌سنگ‌های لیگنایت با استفاده از راکتورهای مخزنی همزن‌دار (STRs): ارزیابی پارامترهای فرآیند و خواص محصول نهایی. تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۰(۵): ۱۱۱۱-۱۱۲۵.

سرلکی ا.، کیانمهر م. ح.، قربانی م.، و آزادگان ب. ۱۴۰۰. بهینه‌سازی فرآیند پلت‌سازی کمپوست باگاس نیشکر به‌کمک روش سطح پاسخ و ارزیابی نرخ آزادسازی نیتروژن از پلت. تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۲(۴): ۱۱۱۷-۱۱۳۳.

شریف پاقلعه ع.، سرلکی ا.، کیانمهر م. ح.، و شکیبا ن. ۱۳۹۶. مطالعه طیفی، ساختاری و شیمیایی هیومیک اسیدهای استخراج‌شده از زغال‌سنگ‌های معادن ایران. تحقیقات آب و خاک ایران، ۴۸(۵): ۱۱۴۵-۱۱۵۸.

صادقی ص.، ولی‌زاده ر.، ناصریان ع. ع.، و طهماسبی ع. ۱۳۹۲. اثر جایگزینی سیلوی ذرت با سطوح متفاوت کاه گندم عمل‌آوری شده با گاز آمونیاک برعملکرد، فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای و فراسنجه‌های خونی تلیسه‌های هلشتاین. پژوهشهای علوم دامی ایران، ۵(۴): ۳۲۵-۳۳۴.

قاسمی ا. ۱۳۹۱. بهبود ارزش تغذیه‌ای کاه غلات (برنج، جو و گندم) با روش‌های شیمیایی و زیستی جهت استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان. رساله دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

قربانی م.، ابونجمی م.، و قربانی جاوید م. ۱۳۹۴. امواج فراصوتی روشی نوین در استخراج ترکیب‌های گیاهی. صوت و ارتعاش، ۴(۸): ۸۵-۹۹.

قربانی م.، کیانمهر م. ح.، عرب حسینی ا.، اسدی الموتی ع.، و صادقی ر. ۱۴۰۰. پیش‌فرآوری ازن‌کافت کاه گندم با هدف بهبود لیگنین‌زدایی: استفاده از روش سطح پاسخ برای مدل‌سازی و بهینه‌سازی فرآیند. مهندسی بیوسیستم ایران، ۵۲(۱): ۳۷-۵۳.

قربانی م.، کیانمهر م. ح.، عرب حسینی ا.، سرلکی ا.، اسدی الموتی ع.، و صادقی ر. ۱۳۹۸a. ازن‌کافت: یک تکنیک اکسیداسیون نوین و مؤثر برای پیش‌فرآوری زیست‌توده‌های لیگنوسلولزی، دوازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم و مکانیزاسیون ایران، ۱۶-۱۸ بهمن‌ماه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

قربانی م.، کیانمهر م. ح.، عرب حسینی ا.، سرلکی ا.، اسدی الموتی ع.، و صادقی، ر. ۱۳۹۸b. اصول سیستم‌های تولید، اعمال و کنترل پلاسما و کاربردهای آن در صنایع غذایی. دوازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم و مکانیزاسیون ایران، ۱۸-۱۶ بهمن‌ماه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

قربانی م.، کیانمهر م. ح.، عرب حسینی ا.، سرلکی ا.، اسدی الموتی ع.، و صادقی ر. ۱۳۹۸c. مروری بر ازن: ویژگی‌ها، آثار، سازوکارهای واکنش، جنبه‌های زیست‌محیطی و ایمنی در فرآوری مواد غذایی. دوازدهمین کنگره ملی مهندسی مکانیک بیوسیستم و مکانیزاسیون ایران، ۱۸-۱۶ بهمن‌ماه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

زرین م.، صمدیان ف.، استادیان ص.، احمدپور ا. ۱۳۹۷. اثر فرآوری کنگر با اوره و ملاس بر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم سیلاژ آن. تحقیقات تولیدات دامی، ۷(۱): ۱۳-۲۱.

Abebe G., Merkel R. C., Animut G., Sahlu T. and Goetsch A. L. 2004. Effects of ammoniation of wheat straw and supplementation with soybean meal or broiler litter on feed intake and digestion in yearling Spanish goat wethers. Small Ruminant Research, 51(1): 37-46.

Ai P., Zhang X., Dinamarca C., Elsayed M., Yu L., Xi J. and Mei Z. 2019. Different effects of ozone and aqueous ammonia in a combined pretreatment method on rice straw and dairy manure fiber for enhancing biomethane production. Bioresource Technology, 282: 275-284.

AOAC. 1998. Officinal Methods of Analysis. 16th Edition, AOAC International, Gaithersburg, MD.

AOCS. 2005. Official procedure, approved procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. Journal of the American Oil Chemists' Society, Urbana.

ASAE Standards: ASAE S358.2. 2003. Moisture measurement-forages. Pp. 607-608.

ASAE Standards: ASAE S319.3. 2006. Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving. Pp. 601-605.

Bals B., Murnen H., Allen M. and Dale B. 2010. Ammonia fiber expansion (AFEX) treatment of eleven different forages: Improvements to fiber digestibility *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 155(2): 147-155.

Barros R. da R. O. de., Paredes R. de S., Endo T., Bon E. P. da S. and Lee S. H. 2013. Association of wet disk milling and ozonolysis as pretreatment for enzymatic saccharification of sugarcane bagasse and straw. Bioresource Technology, 136: 288-294.

Beauchemin K. A., Ribeiro G. O., Ran T., Marami Milani M. R., Yang W., Khanaki H., Gruninger R., Tsang A. and McAllister T. A. 2019. Recombinant fibrolytic feed enzymes and ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment of crop residues to improve fibre degradability in cattle. Animal Feed Science and Technology, 256: 114260.

Ben-Ghedalia D., Shefet G. and Dror Y. 1983. Chemical treatments for increasing the digestibility of cotton straw: 1. Effect of ozone and sodium hydroxide treatments on rumen metabolism and on the digestibility of cell walls and organic matter. The Journal of Agricultural Science, 100(2): 393-400.

Ben-Ghedalia D. and Miron J. 1981a. Effect of sodium hydroxide, ozone and sulphur dioxide on the composition and *in vitro* digestibility of wheat straw. Journal of the Science of Food and Agriculture, 32(3): 224-228.

Ben-Ghedalia D. and Miron J. 1981b. The effect of combined chemical and enzyme treatments on the saccharification and *in vitro* digestion rate of wheat straw. Biotechnology and Bioengineering, 23(4): 823-831.

Binder A., Pelloni L. and Fiechter A. 1980. Delignification of straw with ozone to enhance biodegradability. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 11(1): 1-5.

Blümmel M. and Becker K. 1997. The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibres as described by *in vitro* gas production and their relationship to voluntary feed intake. British Journal of Nutrition, 77(5): 757-768.

Blümmel M. and Rao P. 2006. Economic value of sorghum stover traded as fodder for urban and peri-urban dairy production in Hyderabad, India. International Sorghum and Millets Newsletter, 47: 97-100.

Bule M. V., Gao A. H., Hiscox B. and Chen S. 2013. Structural modification of lignin and characterization of pretreated wheat straw by ozonation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61(16): 3916-3925.

FAO. 2020. Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report No. 1, March 2020, Rome.

Gebretsadik G. and Kebede K. 2011. Feed utilization, digestibility and carcass parameters of Tigray highland sheep fed urea treated wheat straw supplemented with mixtures of wheat bran and noug seed cake, in Southern Tigray, Ethiopia. Livestock Research for Rural Development, 23(9).

Getachew G., Crovetto G. M., Fondevila M., Krishnamoorthy U., Singh B., Spanghero M., Steingass H., Robinson P. H. and Kailas M. M. 2002a. Laboratory variation of 24 h *in vitro* gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 102(1): 169-180.

Getachew G., Makkar H. P. S. and Becker K. 2002b. 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.

Ghorbani M., Aboonajmi M., Ghorbani Javid M. and Arabhosseini A. 2017. Optimization of ultrasound-assisted extraction of ascorbic acid from fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds and evaluation its extracts in free radical scavenging. Agricultural Engineering International: CIGR Journal, 19(4): 209-218.

He L. W., Meng Q. X., Li D. Y., Wang F. and Ren L. P. 2015. Effect of steam explosion on *in vitro* gas production kinetics and rumen fermentation profiles of three common straws. Italian Journal of Animal Science, 14(4): 4076.

Hendriks A. T. W. M. and Zeeman G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology, 100(1): 10-18.

Jung H. J. G., Varel V. H., Weimer P. J. and Ralph J. 1999. Accuracy of klason lignin and acid detergent lignin methods as assessed by bomb calorimetry. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(5): 2005-2008.

Jeranyama P. and Garcia A. 2004. Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ). Extension Extra. Paper 352.

Kádár Z., Schultz-Jensen N., Jensen J. S., Hansen M. A. T., Leipold F. and Bjerre A. B. 2015. Enhanced ethanol production by removal of cutin and epicuticular waxes of wheat straw by plasma assisted pretreatment. Biomass and Bioenergy, 81: 26-30.

Khejornsart P. and Wanapat M. 2010. Effect of Chemical treatment of rice straw on rumen fermentation characteristic, anaerobic fungal diversity *in vitro*. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(24): 3070-3076.

Kumar A. K. and Sharma S. 2017. Recent updates on different methods of pretreatment of lignocellulosic feedstocks: a review. Bioresources and Bioprocessing, 4(1): 7.

Mamleeva N. A., Autlov S. A., Bazarnova N. G. and Lunin V. V. 2009. Delignification of softwood by ozonation. Pure and Applied Chemistry, 81(11): 2081-2091.

Mason V. C., Cook J. E., Dhanoa M. S., Keene A. S., Hoadley C. J. and Hartley R. D. 1990. Chemical

composition, digestibility *in vitro* and bio degradability of grass hay oven-treated with different amounts of ammonia. Animal Feed Science and Technology, 29: 237-249.

Mason V. C., Hartley R. D., Keene A. S. and Cobby J. M. 1988. The effect of ammoniation on the nutritive value of wheat. barley and oat straws. I. Chances in chemical comoosition in relation to digertibihty *in vitro* and cell wall dcgradablity. Animal Feed Science and Technology, 80: 159-171.

McDougall E. I. 1948. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. Biochemical Journal, 43(1): 99-109.

Menke K. 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.

Milad I. S., Rymer C. and Radley R. W. 2010. Effects of ammonia treatment and undegradable protein supplementation on nutrient digestion of sheep fed onwheat straw based diets. Archiva Zootechnica, 13(1): 39-46.

Miron J. and Ben-Ghedalia D. 1981. Effect of chemical treatments on the degradability of cotton straw by rumen microorganisms and by fungal cellulase. Biotechnology and Bioengineering, 23(12): 2863-2873.

Mokomele T., da Costa Sousa L., Bals B., Balan V., Goosen N., Dale B. E. and Görgens J. F. 2018. Using steam explosion or AFEXTM to produce animal feeds and biofuel feedstocks in a biorefinery based on sugarcane residues. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 12(6): 978-996.

National Research Council. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle: Seventh Revised Edition, 2001. Washington, DC: The National Academies Press. https://doi.org/10.17226/9825.

Olkkonen C., Tylli H., Forsskåhl I., Fuhrmann A., Hausalo T., Tamminen T., Hortling B. and Janson J. 2000. Degradation of model compounds for cellulose and lignocellulosic pulp during ozonation in aqueous solution. Holzforschung, 54(4): 397-406.

Sarlaki E., Sharif Paghaleh A., Kianmehr M. H. and Asefpour Vakilian K. 2019. Extraction and purification of humic acids from lignite wastes using alkaline treatment and membrane ultrafiltration. Journal of Cleaner Production, 235: 712-723.

Sarlaki E., Sharif Paghaleh A., Kianmehr M. H. and Asefpour Vakilian K. 2020. Chemical, spectral and morphological characterization of humic acids extracted and membrane purified from lignite. Chemistry and Chemical Technology, 14(3): 353-361.

Sarlaki E., Sharif Paghaleh A., Kianmehr M. H. and Asefpour Vakilian K. 2021. Valorization of lignite wastes into humic acids: Process optimization, energy efficiency and structural features analysis. Renewable Energy, 163: 105-122.

Sarwar M., Khan M. A. and Iqbal Z. 2002. Feed resources for livestock in Pakistan. Intentional Journal of Agriculture, 4: 186-192.

Singh B. and Deol G. 1985. Effect of locality and diameter class on chemical composition of *Quercus leucotrichophora* A. Camus ex Bahadur seeds. The Indian Forester, 5: 301-304.

Sipponen M. H. and Österberg M. 2019. Aqueous ammonia pre-treatment of wheat straw: Process optimization and broad spectrum dye adsorption on nitrogen-containing lignin. Frontiers in Chemistry, 7: 545.

Talebnia F., Karakashev D. and Angelidaki I. 2010. Production of bioethanol from wheat straw: An overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation. Bioresource Technology, 101(13): 4744-4753.

Travaini R., Martín-Juárez J., Lorenzo-Hernando A. and Bolado-Rodríguez S. 2016. Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited. Bioresource Technology, 199: 2-12.

Tyhoda L. 2008. Synthesis, characterisation and evaluation of slow nitrogen release organic soil conditioners from south African technical lignins. Ph.D. dissertation, Stellenbosch University.

Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583-3597.

Yalchi T. 2010. Effects of urea and aqueous ammonia treatment on the nutritive value of triticale. Journal of Food, Agriculture and Environment, 8(1): 69-72.

Zhu B., Gikas P., Zhang R., Lord J., Jenkins B. and Li X. 2009. Characteristics and biogas production potential of municipal solid wastes pretreated with a rotary drum reactor. Bioresource Technology, 100(3): 1122-1129.

Animal Production Research

Vol. 10, No. 4, 2021 (19-34)

University of Guilan

Research paper

Improving the nutritive value of wheat straw by applying the combined chemical-oxidation treatment *in vitro* for the use in ruminant nutrition

M. Ghorbani[1*], M. H. Kianmehr[2], A. Arabhosseini[3], E. Sarlaki[1], A. R. Aghashahi[4], A. Asadi Alamouti[5]

1. Ph.D. Student of Mechanical Engineering of Biosystems, Department of Agrotechnology, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Agrotechnology, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Associate Professor, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran
4. Associate Professor, National Institute of Animal Science Research, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Karaj, Iran
5. Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Abouraihan, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received: 15-01-2021 – Accepted: 20-04-2021)

Abstract

In this research, an ozone gas-based oxidation technique for enhancement of delignification along with urea-based chemical treatment as a nitrogen source was used to improve the nutritional value of wheat straw. The experiments were performed with four treatments and three replications in a completely randomized design. Experimental treatments of wheat straw were 1. Untreated sample, 2. Separate treatment with urea (3% w/w, 24 h), 3. Separate treatment with ozone (3 g/h, 45 min), and 4. Combined treatment of ozone (3 g/h, 45 min) with urea (3% w/w, 24 h). The results showed that ozonized treatments had a significant improvement (P<0.01) in the nutritional value of wheat straw compared to the untreated and urea-treated samples. Also, According to the results, the combined ozone-urea treatment increased the nutritional value of wheat straw more than urea and ozone treatment alone. The combined ozone-urea treatment caused a reduction of 18.28%, 7.97%, and 50% in NDF, ADF, and ADL, respectively. Also, improving the nutritional value was observed by increasing 333.3%, 22.5%, 23.67%, and 35.34% in CP, bonded organic-N, TDN, and RFV, respectively, and improvement of gas production parameters were obtained by increasing 100.21%, 63.76%, 34.93%, and 46.43% for GP24, ME, IVOMD24, and SCFA, respectively, as compared to control sample. Overall, from the results of this study, it can be concluded that combined ozone-urea treatment is comparable to traditional and existing novel treatment methods, which due to its ability to perform at ambient temperature, atmospheric pressure, and short-time treatment, can be used as a suitable alternative in agricultural straw treatments.

Keywords: Urea, *In vitro* gas production, FT-IR spectroscopy, Wheat straw, Ozon gas

[*]Corresponding author: marzie.ghorbani@ut.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.18644.1588