



دانشگاه کردی ارومیه

نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان

جلد نهم، شماره دوم، ۱۴۰۰

<http://ejrr.gau.ac.ir>

۱۳۶-۱۲۱

DOI: 10.22069/ejrr.2021.18751.1777

## بررسی اثر عمل‌آوری با گاز ازون بر ارزش غذایی پودر پر در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی و کیسه‌های نایلونی

بهزاد اسدنژاد<sup>۱</sup>، رسول پیرمحمدی<sup>۲</sup> و حامد خلیل وندی بهروزیار<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری، <sup>۲</sup>استاد و <sup>۳</sup>آستادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۴

### چکیده

**سابقه و هدف:** استفاده از پسماندهای زیستی در تغذیه دام علاوه بر کاهش قیمت تمام شده خوراک، سبب کاهش آلودگی‌های زیست محیطی حاصل از دفع این پسماندها می‌شود. بر حدود ۱۰ درصد وزن پرنده را تشکیل می‌دهد. ۹۰ درصد وزن پر از کراتین تشکیل شده است. پر سرشار از اسید آمینه‌های سرین، سیستین، گلیسین، آلانین و ترئونین است. محکم بودن پروتئین فیبری پر به دلیل بالابودن پیوندهای هیدروژنی و دی‌سولفیدی و خاصیت آب‌دوستی پایین است که سبب نامحلول شدن کراتین و پایداری آن در برابر تجزیه به وسیله آنزیم‌هایی از جمله تریپسین و پپسین می‌شود. اگرچه صنعت طیور در کشور روز به روز در حال گسترش است ولی هیچگونه برنامه‌ای برای عمل‌آوری و به چرخه‌ی تولید برگرداندن این محصول با ارزش وجود ندارد. بنابراین هدف از انجام این طرح بررسی اثر عمل‌آوری با گاز ازون بر ارزش غذایی پودر پر در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی و کیسه‌های نایلونی بود.

**مواد و روش‌ها:** به منظور عمل‌آوری پودر پر با گاز ازون، یک رآکتور با توان تحمل دو بار فشار برای این هدف، طراحی و ساخته شد. رآکتور عمل‌آوری کننده شامل یک مخزن دوجداره فولادی با رویه‌ی استیل با گنجایش یک کیلوگرم بود. یک ژنراتور تولید کننده گاز ازون با توان تولید ده گرم ازون در ساعت به آن متصل شد و از یک کپسول اکسیژن جهت تامین اکسیژن مورد نیاز دستگاه و همچنین افزایش فشار در داخل رآکتور استفاده شد. تیمارهای آزمایش شامل: شاهد (پودر پر بدون عمل‌آوری)، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۳۰ دقیقه، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۶۰ دقیقه، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۹۰ دقیقه و پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۱۸۰ دقیقه بودند. به منظور تعیین ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک، قیل و پس از عمل‌آوری از سه رأس گاو نر بالغ اخته فیستوله‌گذاری شده نژاد هلشتاین استفاده شد. به منظور تعیین اثر عمل‌آوری بر میزان گاز تولیدی در شرایط آزمایشگاهی از تعیین فشار گاز تولیدی در سه دور مجزا و سه تکرار به ازای هر نمونه در هر دور، استفاده شد. برای ارزیابی داده‌های مربوط به فرآیندهای تجزیه‌پذیری از طرح بلوک کامل تصادفی (اثر دام به عنوان بلوک) استفاده شد.

**یافته‌ها:** ماده خشک پودر پر تحت تاثیر گاز ازون کاهش معنی‌داری در تیمارهای ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داد ( $P < 0/05$ ). مقدار عصاره اتری تحت تاثیر فرآوری با گاز ازون افزایش معنی‌داری را در تیمارهای ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داد ( $P < 0/05$ ). مقدار

\*نویسنده مسئول: [r.pirmohammadi@urmia.ac.ir](mailto:r.pirmohammadi@urmia.ac.ir)

پروتئین خام نیز در تیمار ۱۸۰ دقیقه افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ) ولی در سایر تیمارها تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بیشترین مقدار پروتئین خام پودر پر در تیمار ۱۸۰ دقیقه (۷۹/۳۵ درصد) و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد (۷۸/۴۶ درصد). مقدار خاکستر تحت تاثیر عمل آوری با گاز ازون قرار نگرفت. فرآوری با گاز ازون مقدار تولید گاز را افزایش داد ( $P < 0/05$ ). تولید گاز بخش نامحلول افزایش معنی داری را در همه زمان‌های فرآوری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). ثابت نرخ تجزیه کاهش معنی داری را در تیمار ۱۸۰ دقیقه نشان داد ( $P < 0/05$ ). در مقدار تولید گاز متان و قابلیت هضم ماده خشک همه تیمارها افزایش معنی داری مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار تولید گاز متان در تیمار ۱۸۰ دقیقه عمل آوری مشاهده شد (۱۶/۴۸). مقدار pH از لحاظ آماری معنی دار نشد ( $P < 0/05$ ). جمعیت پروتوزایی در تیمارهای ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه افزایش معنی داری را نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ). تجزیه پذیری ماده خشک افزایش معنی داری در همه تیمارها نشان داد ( $P < 0/05$ ). بیشترین مقدار تجزیه پذیری در ساعت ۹۶ در تیمار ۱۸۰ دقیقه (درصد ۴۸/۰۵) و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد (درصد ۳۲/۴۲). بخش نامحلول با افزایش مدت زمان عمل آوری افزایش معنی داری نشان داد ( $P < 0/05$ ). تجزیه پذیری موثر در همه ثابت‌های نرخ عبور با افزایش زمان عمل آوری افزایش معنی داری نشان داد ( $P < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** طبق نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که عمل آوری پودر پر با استفاده از گاز ازون سبب افزایش تجزیه پذیری ماده خشک و ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود. مطالعات بیشتر در زمینه افزایش مدت زمان عمل آوری و استفاده از اکسیژن هوا در جهت افزایش هرچه بیشتر تجزیه پذیری این پسماند زیستی با ارزش مورد نیاز می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پودر پر، تجزیه پذیری، تکنیک کیسه‌ی نایلونی، تولید گاز، گاز ازن

#### مقدمه

با افزایش جمعیت نیاز به تأمین پروتئین حیوانی با کیفیت نیز افزایش یافته است. رقابت بین انسان و دام در استفاده از غلات، و تمایل به تولید سوخت‌های زیستی با استفاده از اقلام معمول خوراک دام بیشتر شده است. از سوی دیگر کاهش سطح زمین‌های قابل کشت و اهمیت استفاده بهینه‌تر از منابع و افزایش نقش حیوانات مزرعه‌ای در آلودگی‌های زیست محیطی نگرانی‌هایی را در زمینه‌ی دامپروری پایدار ایجاد کرده‌اند (۳۱). استفاده از ضایعات کشاورزی و پسماندهای زیستی در تغذیه دام راه حل مناسبی برای برطرف کردن این مشکل و کاهش هزینه‌ها و افزایش سودآوری است.

پسماندهای کشاورزی به‌طور عمده شامل بقایای محصولات زراعی و فرآورده‌های فرعی کارخانجات کشاورزی است. این پسماندهای کشاورزی دارای عوامل محدود کننده می‌باشند که تغذیه آن‌ها را در

حیوانات محدود می‌کند (۱۸). نشخوارکنندگان به علت داشتن میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای می‌توانند از محصولات فرعی زراعی و فرآورده‌های کارخانجات و پسماندهای زیستی برای تأمین نیازهای نگهداری رشد و تولید استفاده کنند.

استفاده از پسماندهای زیستی در تغذیه دام علاوه بر کاهش قیمت تمام شده خوراک، سبب کاهش آلودگی‌های زیست محیطی حاصل از دفع این پسماندها می‌شود (۲۵). برآورد شده است که سالانه  $10^8 \times 7/7$  تن مواد کراتینی، مانند شاخ، سم، مو، پشم و پر تولید می‌شود که می‌تواند آلودگی‌های زیست محیطی بسیاری را در پی داشته باشد (۹). پر حدود ۱۰ درصد وزن پرنده را تشکیل می‌دهد. ۹۰ درصد وزن پر از کراتین تشکیل شده است پر سرشار از اسید آمینه‌های سرین، سیستئین، گلايسين، آلانین و ترئونین است (۳۲)، اما میزان متیونین، لایزین و تریپتوفان کمتری دارد (۳).

پیوندهای دی سولفیدی پودر پر استفاده شده است که می‌توان استفاده از کراتینازها و هیدروکسید کلسیم، فشار، بخار، حرارت و غیره را نام برد که همه این موارد علاوه بر ایجاد آلودگی‌های زیستی و هزینه‌های زیاد نمی‌توانند قابلیت هضم پودر پر را به‌طور قابل توجهی بهبود ببخشند. در سال‌های اخیر استفاده از ازون برای عمل‌آوری محصولات کشاورزی استفاده شده است که این نوع از عمل‌آوری قیمت تمام شده محصول مورد نظر را نیز بسیار کاهش می‌دهد. به‌دلیل قدرت اکسیدکنندگی بالای ازون به‌نظر می‌رسد این گاز باعث اکسید شدن و شکستن پیوندهای محکم دی سولفیدی در پر شده و قابلیت هضم منابع پروتئین آن را به‌مقدار قابل توجهی بهبود بخشد. بنابراین هدف از انجام این طرح بررسی اثر عمل‌آوری با گاز ازون بر ارزش غذایی پودر پر در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی و کیسه‌های نایلونی بود.

### مواد و روش‌ها

**محل اجرای آزمایش:** این پژوهش در ایستگاه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. با توجه به نبود رآکتور برای عمل‌آوری با گاز ازون، یک رآکتور با توان تحمل دو بار فشار برای این هدف، طراحی و ساخته شد (شکل ۱). رآکتور عمل‌آوری کننده از یک مخزن دوجداره‌ی فولادی با رویه استیل با گنجایش یک کیلوگرم بود. برای افزایش سطح تماس پودر پر با گاز ازون از یک الکتروموتور با قدرت ۱۲۰۰ دور در دقیقه و یک همزن متشکل از یک شافت نیم متری با قطر پنج سانتیمتر و شش پره، پودر پر داخل رآکتور مخلوط شد. یک ژنراتور تولید کننده‌ی گاز ازون با توان تولید ده گرم ازن در ساعت به آن متصل شد و از یک کپسول اکسیژن جهت تامین اکسیژن مورد نیاز

محکم بودن پروتئین الیافی به‌دلیل بالابودن پیوندهای هیدروژنی، دی‌سولفیدی و خاصیت آب‌دوستی پایین است که سبب نامحلول شدن کراتین و پایداری آن در برابر تجزیه به وسیله‌ی آنزیم‌هایی مانند تریپسین و پپسین می‌شود (۴). وجود این ساختارهای پایدار سبب شده است که ارزش تغذیه‌ای این منبع پروتئینی بسیار کم باشد (۱۶). تجزیه پذیری شکمبه‌ای پودر پر کمتر از ۱۸ درصد گزارش شده است (۱۱).

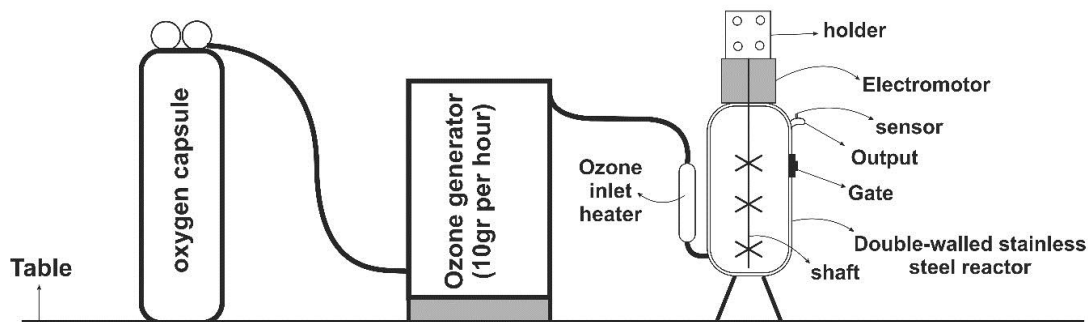
اگرچه صنعت طیور در کشور روز به روز در حال گسترش می‌باشد، ولی هیچگونه برنامه‌ای برای عمل‌آوری و به چرخه تولید برگرداندن این محصول با ارزش وجود ندارد (۲۸). بسیاری از منابع پروتئینی ممکن است محتوی پروتئین خام بالایی داشته باشند. اما سطح اسید آمینه ضروری و پروتئین عبوری آن‌ها کم می‌باشد.

با توجه به محدودیت‌های اقتصادی، ممکن است استفاده از منابع پروتئینی عبوری حیوانی نظیر پودر ماهی همواره میسر نباشد. علاوه بر محدودیت‌های اقتصادی، گاهی به‌علت آلودگی احتمالی در منابع پروتئین حیوانی و امکان شیوع بیماری‌های قابل انتقال از طریق پودر گوشت و پودر چربی، استفاده از منابع پروتئینی حیوانی با محدودیت مواجه است. از این رو عمل‌آوری پروتئین‌های حیوانی سالم که آلودگی کمتری نیز دارند در مقایسه با سایر منابع حیوانی ممکن است کلید حل مشکل باشد. باس و همکاران (۱۹۸۹) مشاهده کردند هنگامی که پودر پر و یا پودر خون جایگزین کنجاله سویا در جیره شد، تولید پروتئین میکروبی کاهش یافت و آن‌ها عدم بهبود و یا افت تولید ناشی از جایگزینی کامل پودر پر به‌جای سویا را به عواملی مانند قابلیت تجزیه‌پذیری و هضم پایین پودر پر نسبت به سویا نسبت دادند (۲).

روش‌های مختلفی تا کنون برای شکستن

اکسیژن در این طرح استفاده شد همچنین از یک گرمکن ازون پیش ورودی برای گرم کردن گاز ازون داخل رآکتور به دلیل افزایش سرعت واکنش استفاده شد.

دستگاه و همچنین افزایش فشار در داخل رآکتور استفاده شد. لازم به ذکر می‌باشد می‌توان از اکسیژن هوا نیز استفاده نمود که در این صورت غلظت اکسیژن ورودی کاهش می‌یابد. بنابراین از کپسول



شکل ۱- شماتیکی از رآکتور ازون برای هیدرلیز پودر پودر پر

Figure 1- Schematic of O<sup>3</sup> reactor for hydrolysis of feather meal

شده متشکل از سیلاژ ذرت (۳ کیلوگرم)، یونجه خشک (۶ کیلوگرم) و کنسانتره (۱/۵ کیلوگرم) و دوبار در روز تغذیه شدند. نسبت علوفه به کنسانتره ۷۰:۳۰ و میزان پروتئین جیره ۱۳۰ گرم بر کیلو گرم ماده خشک جیره بود. تیمارهای آزمایش شامل: شاهد (پودر پر بدون عمل‌آوری)، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۳۰ دقیقه، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۶۰ دقیقه، پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۹۰ دقیقه و پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان ۱۸۰ دقیقه بودند. برای تعیین میزان تجزیه‌پذیری از کیسه‌های پلی‌استر با ابعاد ۱۸x۸ سانتی‌متر، با قطر منافذ ۵۰ میکرومتر استفاده شد. مقدار ۲ گرم از نمونه‌ها در داخل کیسه‌های نایلونی ریخته شد تا نسبت اندازه نمونه به سطح کیسه‌ها، برابر با ۱۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر سانتی‌متر مربع شود. نمونه‌ها پیش از توزین، به منظور زدودن ذرات کمتر از ۵۰ میکرون با استفاده از الک با توری ۵۰ میکرون الک شدند. زمان قرار دادن نمونه‌ها در شکمبه قبل از خوراک‌دهی صبح بود و کیسه‌ها در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و

نمونه‌های پر جوجه‌های گوشتی سویه راس از کشتارگاه صنعتی مرغ پروتئین گستر آسیا در شهرستان ارومیه تهیه، شستشو و در داخل آون بزرگ با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد خشک و با استفاده از آسیاب یک میلی‌متری آسیاب شدند. جهت تعیین ترکیب شیمیایی پودر پر، نمونه‌برداری به صورت تصادفی انجام پذیرفت و بعد از آسیاب کردن نمونه مقدار ماده خشک، پروتئین خام، چربی خام و خاکستر اندازه‌گیری شد (۱). پودر پر را به اندازه ظرفیت مخزن به داخل آن ریخته و درب رآکتور بسته شد. ابتدا الکتروموتور و ژنراتور ازون را روشن کرده و شیر کپسول اکسیژن باز شد و در فشار ۱/۵ بار و زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه عمل‌آوری‌ها انجام شدند. ترکیب شیمیایی نمونه‌ها بعد از عمل‌آوری نیز اندازه‌گیری شدند (۱).

**تعیین میزان تجزیه‌پذیری ماده خشک:** به منظور تعیین ضرایب تجزیه‌پذیری ماده خشک، قبل و پس از عمل‌آوری از ۳ رأس گاو نر بالغ اخته فیستوله‌گذاری شده نژاد هلشتاین با وزن ۲۸۰ کیلوگرم استفاده شد. گاوها در سطح نگهداری و با جیره‌ای کاملاً مخلوط

فلاسک محتوی گازکربنیک سریعاً به آزمایشگاه منتقل شد. به منظور کسب اطمینان از حضور تمامی میکروارگانیزم‌های شکمبه، محتویات مایع شکمبه هر سه گاو با هم مخلوط شده و با استفاده از همزن با سرعت بالا به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شده و در نهایت با استفاده از پارچه کتان ۴ لایه صاف شدند. پس از صاف کردن، مایع شکمبه و بافر (محلول‌های ماکرومینرال، میکرومینرال، احیاکننده، بافر و ریسازورین) مطابق روش منک و همکاران (۱۹۷۹) و روش تصحیح شده منک و استینگاس (۱۹۹۸) به نسبت یک به دو مایع شکمبه و بافر به داخل بالن سه دهانه مخصوص تحت جریان مداوم دی‌اکسید کربن ریخته شده و تا زمان انتقال به شیشه‌های حاوی نمونه در حمام آبی با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (۲۱، ۲۲). برای اندازه‌گیری میزان گاز تولیدی در ساعات مختلف، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های آزمایشی آسیاب شده با غربال ۱ میلی‌متری آسیاب تاگلیاپیترا (۲۰۱۱) در شیشه‌های با حجم ۱۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد (۳۴). با افزودن ۵۰ میلی‌لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر درب شیشه‌ها با درپوش پلاستیکی و پرس فلزی بسته شده و در آن با دمای ۳۹ درجه سلسیوس قرار داده شدند. شیشه‌ها هر ۱ ساعت یک‌بار تکان داده شدند. فشار گاز تولیدی در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت قرائت و ثبت شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی توسط مایع شکمبه، در هر دور ۳ شیشه فاقد نمونه به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. حجم گاز تولیدی توسط رابطه رگرسیونی بین حجم و فشار گاز محاسبه شده و از بسته نرم افزار آماری SAS ۹.۱ و رویه NLIN به‌منظور برازش داده‌ها از معادله  $P = b(1 - e^{-ct})$  استفاده شد (۳۰).

**تعیین میزان متان تولیدی و فرآسنجه‌های شکمبه‌ای:** به‌منظور تعیین میزان فرآسنجه‌های مختلف شکمبه‌ای همانند pH، جمعیت پروتوزوا و میزان متان تولیدی

۹۶ ساعت از شکمبه خارج شدند. چهار کیسه برای هر زمان انکوباسیون در شکمبه هر گاو قرار گرفت. کیسه‌ها بلافاصله پس از خارج شدن از شکمبه در آب سرد قرار داده شده و با دست به مدت ۲۰ دقیقه و تا صاف شدن آب خروجی از سطل، شستشو شدند. برای تعیین تجزیه‌پذیری در زمان صفر، کیسه‌ها بدون انکوباسیون در شکمبه، با استفاده از آب ۳۹ درجه سلسیوس، همانند کیسه‌های خارج شده از شکمبه شسته شدند. کیسه‌ها پس از شستشو، به‌مدت ۴۸ ساعت در آن با دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. به‌منظور اطمینان از عدم وجود تأثیر تغییرات روزانه در ترکیب مایع شکمبه و مقادیر تجزیه‌پذیری فرآیند انکوباسیون کیسه‌ها در دو هفته متوالی تکرار شد. فرآسنجه‌های تجزیه‌پذیری ماده خشک با استفاده از معادله‌ی  $P = a + b(1 - e^{-ct})$  محاسبه شد و میزان تجزیه‌پذیری مؤثر در سرعت‌های عبور ۰/۰۲، ۰/۰۵ و ۰/۰۸ در ساعت از شکمبه با استفاده از روابط غیرخطی ارسکف و مک دونالد (۱۹۷۹)  $(ED = a + \frac{b \times c}{c + k})$  با استفاده از PROC NLIN نرم‌افزار آماری SAS (۹/۱) تعیین شدند (۲۴، ۳۰).

**p:** مقدار ناپدید شدن در زمان  $t$ ، **a:** بخش سریع تجزیه، **b:** بخش کند تجزیه، **c:** ثابت نرخ تجزیه  $t$ ، زمان انکوباسیون

**ED:** تجزیه‌پذیری مؤثر شکمبه‌ای، **a:** بخش سریع تجزیه، **b:** بخش کند تجزیه، **c:** ثابت نرخ تجزیه و **K:** ثابت نرخ عبور

**آزمون تولید گاز:** به‌منظور تعیین اثر عمل‌آوری بر میزان گاز تولیدی و شکسته شدن پیوندهای دی‌سولفیدی در شرایط آزمایشگاهی از تعیین فشار گاز تولیدی (۳۳) در سه دور مجزا و سه تکرار به‌ازای هر نمونه در هر دور، استفاده شد (۲۱). مایع شکمبه موردنیاز قبل از وعده غذایی صبح از شکمبه حیوانات مورد استفاده در آزمون تجزیه‌پذیری جمع‌آوری و در

و نمونه وزن شد و با استفاده از تفاوت وزن مقدار تجزیه پذیری ماده خشک بدست آمد.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** به منظور مقایسه اثر زمان‌های مختلف عمل‌آوری بر ترکیبات شیمیایی از طرح کامل تصادفی (رابطه ۱) و به منظور ارزیابی داده‌های مربوط به فرآیندهای تجزیه پذیری از طرح بلوک کامل تصادفی (اثر دام به عنوان بلوک) استفاده شد (رابطه ۲). در طرح آماری مورد استفاده به منظور ارزیابی اثر عمل‌آوری بر فرآیندهای تولید گاز، میزان گاز متان تولیدی و فرآیندهای شکمبه‌ای، علاوه بر اثر اصلی تیمار، اثر دور انجام آزمون نیز مورد استفاده قرار گرفت (رابطه ۳). در طرح آماری مورد استفاده در تعیین میزان کنتیک تولید گاز و کنتیک تجزیه پذیری مواد مغذی اثر روزهای مختلف انجام آزمون و اثر زمان انکوباسیون (ساعت) به عنوان عامل تکرار شونده و اثر متقابل زمان انکوباسیون و مدت زمان عمل‌آوری در مدل آماری قرار گرفته (معادله شماره ۴) و در زمان آنالیز آماری با توجه به داده‌های خروجی، ساختار واریانس - کوواریانس نوع اول به عنوان بهترین ساختار مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز آماری معادلات ۱، ۲ و ۳ با استفاده از رویه مدل خطی تعمیم یافته و معادله شماره ۴ با استفاده از رویه مختلط نرم‌افزار آماری SAS (۹/۱) انجام شد (۳۰). در ارتباط با تمامی معادلات مدل، تصحیح میانگین حداقل مربعات با استفاده از آزمون توکی و مقایسه میانگین‌ها با گزینه PDIFF در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ انجام گرفته و داده‌ها به صورت میانگین حداقل مربعات و خطای استاندارد مربوطه در جداول گزارش شدند.

$$Y_i = \mu + T_i + e_i \quad \text{رابطه ۱}$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + A_j + e_{ij} \quad \text{رابطه ۲}$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + R_j + e_{ij} \quad \text{رابطه ۳}$$

$$Y_{ij} = \mu + T_i + I_t + \text{Tit}_{ij} + e_{ij} \quad \text{رابطه ۴}$$

در ۲۴ ساعت، از انکوباسیون مجزا در هنگام انجام آزمون تولید گاز استفاده شد. مقادیر نمونه، محیط کشت و زمان انجام آزمون کاملاً مشابه فرآیند توصیف شده برای آزمون تولید گاز بود. در این آزمون سه فلاسک به ازای هر تیمار ۲۴ ساعت پس از شروع انکوباسیون بازگشایی شده و پس از اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر (مدل Schott Titrator Titroline easy کشور آلمان)، نمونه‌ی مایع شکمبه برای تعیین جمعیت پروتوزوا اخذ شد. تثبیت پروتوزوا به منظور شمارش با استفاده از فرمالین ۵۰ درصد تهیه شده با استفاده از سرم فیزیولوژیک، به نسبت ۱:۱ با مایع شکمبه انجام و شمارش پروتوزوا با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰، لام مخصوص و رنگ آمیزی متیلن بلو انجام گرفت (۷). به منظور تعیین مقدار و الگوی اسیدهای چرب فرار، محتویات فلاسک‌ها با استفاده از توری ۴ لایه صاف شده و بلافاصله با نسبت ۱:۵۰ با اسید سولفوریک ۵۰ درصد محافظت شده و پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه، تا زمان آنالیز در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سه فلاسک دیگر ۲۴ ساعت پس از آغاز انکوباسیون به منظور تعیین میزان گاز متان تولیدی مورد استفاده قرار گرفت. از تزریق ۴ میلی‌لیتر محلول ۱۰ مولار سدیم هیدروکسید و قرائت تفاضل گاز قابل اندازه‌گیری، پس از گذشت یک دقیقه از تزریق به منظور برآورد میزان متان استفاده شد (۶). برای اندازه‌گیری میزان قابلیت هضم ماده خشک نمونه‌های بعد از انکوباسیون داخل شیشه‌ها بلافاصله بعد از باز کردن درب شیشه‌ها با استفاده از کاغذ صافی تعیین وزن شده نمونه‌ها صاف شدند و کاغذ صافی و نمونه‌ی باقیمانده‌ی روی آن در داخل آون قرار داده شد و بعد از خشک شدن در داخل آون کاغذ صافی

شدن قسمتی از ماده خشک تحت تاثیر گاز ازون و تغلیظ عصاره اتری می‌تواند دلیل احتمالی افزایش آن باشد. مقدار پروتئین خام نیز در تیمار ۱۸۰ دقیقه افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0/05$ ) ولی در سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بیشترین مقدار پروتئین خام پودر پر در تیمار ۱۸۰ دقیقه (۷۹/۳۵ درصد) و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد (۷۸/۴۶ درصد) که مشابه مقدار گزارش شده توسط کامالاک و همکاران (۲۰۰۵) است (۱۴) ولی در NRC مقدار پروتئین خام پودر پر هیدرولیز شده ۹۲ درصد (۲۳) و در مطالعه دیگری نیز ۷۱/۷۵ درصد گزارش شده است (۱۹). پروتئین خام بخش اصلی ترکیب شیمیایی پودر پر می‌باشد. زرنگار و همکاران (۲۰۱۸) دلیل تنوع در میزان پروتئین خام در مطالعات مختلف را به میزان احشاء در حین تولید نسبت دادند (۳۸). محققین افزایش پروتئین خام علوفه اسپرس عمل‌آوری شده با مواد اکسیدکننده و قلیایی را گزارش نمودند که دلیل آن را اکسید شدن بخشی از ماده خشک در اثر استفاده از مواد اکسیدکننده و در نتیجه تغلیظ پروتئین خام در ماده خشک خوراک دانستند (۱۲). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد افزایش مدت زمان عمل‌آوری سبب اکسیداسیون بیشتر و در نتیجه تغلیظ پروتئین و افزایش مقدار آن در تیمار ۱۸۰ دقیقه شده است. مقدار خاکستر تحت تاثیر عمل‌آوری با گاز ازون قرار نگرفت.

$Y_i$ : مشاهده  $i$ ،  $\mu$ : میانگین کل مشاهدات،  $T_i$ : اثر تیمار،  $A_j$ : اثر حیوان،  $It_j$ : اثر زمان انکوباسیون،  $T_i t_j$ : اثر متقابل زمان انکوباسیون و نوع عمل‌آوری،  $e_{ij}$ : اثر اشتباه آزمایشی

### نتایج و بحث

**ترکیب شیمیایی:** در جدول ۱ داده‌های مربوط به تاثیر گاز ازون بر ماده خشک و ترکیب شیمیایی پودر پر گزارش شده است. مقدار ماده خشک پودر پر تحت تاثیر گاز ازون کاهش معنی‌داری در تیمارهای ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داد ( $P < 0/05$ ) ولی در تیمار ۳۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. کاهش مقدار ماده خشک با افزایش زمان عمل‌آوری را می‌توان به اکسید شدن بخشی از پودر پر حین عمل‌آوری با گاز ازون بدلیل اکسیدکنندگی بالای آن نسبت داد. در مطالعه‌ای خلیل‌وندی و همکاران (۲۰۱۱) بیان نمودند که اکسید شدن بخشی از ماده خشک علوفه اسپرس در اثر استفاده از مواد اکسیدکننده باعث کاهش ماده خشک آن شده است (۱۲). بیشترین مقدار کاهش در مقدار ماده خشک در تیمار ۱۸۰ دقیقه عمل‌آوری مشاهده شد که نشان دهنده ارتباط بین زمان عمل‌آوری و اکسیداسیون است. مقدار عصاره اتری تحت تاثیر عمل‌آوری با گاز ازون افزایش معنی‌داری را در تیمارهای ۶۰، ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه نشان داد ( $P < 0/05$ ). ولی در تیمار ۳۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. اکسید

جدول ۱- تأثیر پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان‌های مختلف بر میزان ماده خشک و ترکیب شیمیایی (درصد ماده خشک)

**Table 1- The effect of O<sup>3</sup> gas processing feather meal at different time intervals on the dry matter and chemical composition (dry matter %)**

سطح معنی‌داری p-value	اشتباه معیار میانگین SEM	گاز ازون (دقیقه)					شاهد Control	ترکیبات شیمیایی Chemical compounds
		180	90	60	30	O <sup>3</sup> Gas (min)		
0.005	0.251	92.25 <sup>c</sup>	93.40 <sup>b</sup>	93.50 <sup>b</sup>	94.60 <sup>a</sup>	95.35 <sup>a</sup>	ماده خشک Dry matter	
0.005	0.126	9.36 <sup>a</sup>	8.35 <sup>b</sup>	8.27 <sup>b</sup>	6.97 <sup>c</sup>	6.69 <sup>c</sup>	عصاره اتری Ether extract	
0.109	0.163	79.35 <sup>a</sup>	78.94 <sup>ab</sup>	78.89 <sup>ab</sup>	78.75 <sup>ab</sup>	78.46 <sup>b</sup>	پروتئین خام Crude protein	
0.382	0.481	3.22	3.25	3.28	3.23	3.13	خاکستر Ash	

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

In each row data with different superscripts are statistically different (P < 0.05).

معنی‌داری را در تیمار ۱۸۰ دقیقه نشان داد (P<۰/۰۵). در اثر تخمیر پروتئین‌ها در روش آزمایشگاهی، مقدار گاز کمتری در مقایسه با کربوهیدرات‌ها تولید می‌شود (۳۶). در تحقیقی منک و استینگاس (۱۹۸۸) بیان کردند که توده میکروبی و اسیدهای چرب فرار محصولات نهایی هضم شکمبه‌ای هستند و هر محصول نهایی که در پایان تخمیر اندازه‌گیری شود، مستقیماً به توده‌ی مواد هضم شده بستگی دارد. تولید گاز با تولید خالص اسیدهای چرب فرار و سنتز میکروبی رابطه خطی دارد. هر چند حجم خالص گاز تولید شده به ازای هر واحد سوبسترای هضم شده نشان دهنده متابولیسم میکروبی است، اما نمی‌توان به تولید تجمعی گاز به عنوان یک شاخص برای پتانسیل رشد میکروبی یک خوراک اعتماد کرد (۲۱). گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عاملی به جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار نمی‌گیرد اما تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه ممکن است روی تخمیر اثر بگذارد (۲۲). با شکسته شدن کراتین نامحلول، بخش محلول پروتئین موجود در پودر پر افزایش یافته است و با تبدیل کراتین نامحلول به پلی‌پپتید، پپتید و

تولید گاز و ضرایب: مقدار تولید گاز پودر پر تحت تأثیر تیمارهای مختلف گاز ازون در جدول ۲ گزارش شده است. عمل‌آوری با گاز ازون مقدار تولید گاز را افزایش داد (P<۰/۰۵). در ساعت‌های اولیه مقدار تولید گاز در تیمار شاهد تفاوتی با مقدار تولید گاز بلانک نداشت بنابراین تولید گاز تا زمان ۶ ساعت در تیمار شاهد مربوط به ذرات مایع شکمبه می‌باشد ولی از همان ساعات اولیه در تیمارهای پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون فرآیند تولید گاز شروع شده است که نشان می‌دهد، گاز ازون با شکستن پیوندهای هیدروژنی و دی سولفیدی باعث آزادسازی پروتئین و در نتیجه باعث دسترسی میکروارگانیزم‌ها به سوبسترا شده است. بیشترین مقدار تولید گاز در زمان‌های مختلف در تیمار ۱۸۰ دقیقه مشاهده شد و کمترین مقدار در تیمار شاهد بود. میزان ضرایب تولید گاز پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان‌های مختلف در جدول ۲ گزارش شده است. تولید گاز بخش قابل تخمیر (b) افزایش معنی‌داری را در همه زمان‌های عمل‌آوری نسبت به شاهد نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار بخش (b) در تیمار ۱۸۰ دقیقه مشاهده شد. بخش ثابت نرخ تجزیه (c) کاهش



آن با کنجاله سویا در جیره‌ها بیان کردند که تغییر در پتانسیل تولید گاز بین تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که زمان عمل‌آوری پودر پر می‌تواند تغییرات گسترده‌ای در پتانسیل تولید گاز از بخش قابل تخمیر، ایجاد کند (۲۸). افزایش تولید گاز و افزایش بخش غیر محلول در تحقیق حاضر را می‌توان اینگونه توجیه کرد که عمل‌آوری با گاز ازون سبب شکستن کراتین و افزایش بخش محلول شده است. با توجه به اینکه بیشتر اسیدهای آمینه پودر پر آبگریز می‌باشند بنابراین تغلیظ پروتئین‌های موجود در پودر پر باعث افزایش بخش غیر محلول و افزایش پروتئین عبوری شده است

آمینواسیدها کارایی استفاده از نیتروژن توسط میکروارگانیزم‌های شکمه بهبود یافته است (۱۳). قابلیت حل شدن پروتئین‌ها به نوع اسیدهای آمینه آن‌ها بستگی دارد. اسیدهای آمینه آبگریز بسیاری در پروتئین‌های کروی وجود دارد که درون آن‌ها پنهان شده‌اند (۲۲). نکته‌ی قابل توجه این است که با افزایش زمان عمل‌آوری مقدار تولید گاز افزایش یافته است که این می‌تواند دلیلی بر رابطه مستقیم بین زمان عمل‌آوری و افزایش محلولیت پروتئین پودر پر باشد. بنابراین افزایش تولید گاز دور از انتظار نبود. رجائی راد و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی با عنوان هیدرولیز پودر پر با استفاده از هیدروکسید کلسیم و جایگزینی

جدول ۲- تأثیر پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان‌های مختلف بر حجم گاز تولیدی تجمعی و ضرایب (میلی‌لیتر به ازاء ۵۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)

Table 2- The effect of O<sup>3</sup> gas processing feather meal at different time intervals on the volume of cumulative gas produced and coefficients (mL per 500 mg of dry matter)

گاز ازون (دقیقه)								زمان‌های انکوباسیون Incubation times
O <sup>3</sup> Gas (min)								
اشتباه معیار میانگین SEM	سطح معنی‌داری p-value	بلانک Blank	180	90	60	30	شاهد Control	
0.695	<0.0001	5.38 <sup>b</sup>	9.35 <sup>a</sup>	7.70 <sup>a</sup>	8.45 <sup>a</sup>	8.00 <sup>a</sup>	5.38 <sup>b</sup>	2
0.695	<0.0001	7.58 <sup>b</sup>	12.44 <sup>a</sup>	11.09 <sup>a</sup>	11.17 <sup>a</sup>	10.65 <sup>a</sup>	7.58 <sup>b</sup>	4
0.695	<0.0001	8.95 <sup>c</sup>	15.54 <sup>a</sup>	13.52 <sup>ab</sup>	13.14 <sup>ab</sup>	12.32 <sup>b</sup>	8.95 <sup>c</sup>	6
0.695	<0.0001	10.40 <sup>c</sup>	18.63 <sup>a</sup>	16.46 <sup>ab</sup>	15.95 <sup>b</sup>	14.74 <sup>b</sup>	11.30 <sup>c</sup>	8
0.695	<0.0001	10.58 <sup>c</sup>	22.48 <sup>a</sup>	19.04 <sup>b</sup>	18.44 <sup>b</sup>	16.57 <sup>c</sup>	12.90 <sup>d</sup>	10
0.695	<0.0001	10.31 <sup>c</sup>	25.65 <sup>a</sup>	20.63 <sup>b</sup>	20.41 <sup>b</sup>	18.02 <sup>c</sup>	13.90 <sup>d</sup>	12
0.695	<0.0001	10.26 <sup>c</sup>	41.31 <sup>a</sup>	34.13 <sup>b</sup>	32.11 <sup>b</sup>	23.95 <sup>c</sup>	18.57 <sup>d</sup>	24
0.695	<0.0001	10.74 <sup>f</sup>	56.08 <sup>a</sup>	46.35 <sup>b</sup>	43.51 <sup>c</sup>	33.33 <sup>d</sup>	26.90 <sup>e</sup>	48
0.695	<0.0001	14.06 <sup>f</sup>	70.03 <sup>a</sup>	59.32 <sup>b</sup>	55.96 <sup>c</sup>	43.28 <sup>d</sup>	34.49 <sup>e</sup>	72
0.695	<0.0001	15.36 <sup>f</sup>	75.52 <sup>a</sup>	64.36 <sup>b</sup>	60.77 <sup>c</sup>	47.08 <sup>d</sup>	37.06 <sup>e</sup>	96
0.695	<0.0001	15.09 <sup>f</sup>	78.53 <sup>a</sup>	66.79 <sup>b</sup>	62.75 <sup>c</sup>	48.23 <sup>d</sup>	36.86 <sup>e</sup>	120
پارامتر								Coefficients
1.64	<0.0001	18.28 <sup>f</sup>	85.00 <sup>a</sup>	74.04 <sup>b</sup>	70.23 <sup>c</sup>	55.68 <sup>d</sup>	42.28 <sup>e</sup>	B
0.001	0.365	0.018 <sup>c</sup>	0.024 <sup>a</sup>	0.021 <sup>ab</sup>	0.021 <sup>abc</sup>	0.019 <sup>bc</sup>	0.022 <sup>a</sup>	C

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

In each row data with different superscripts are statistically different (P < 0.05).

عمل‌آوری با ازون افزایش معنی‌داری را در همه‌ی تیمارها نشان داد (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار تولید متان در تیمار ۱۸۰ دقیقه عمل‌آوری مشاهده شد

میزان تولید متان و فرآسنجه‌های شکمه‌ای: میزان تولید متان و فرآسنجه‌های تخمیری تیمارهای مختلف در جدول ۳ گزارش شده است. تولید گاز متان در اثر

متانوژن‌ها در یک ارتباط همزیستی با باکتری‌ها و پروتوزوای شکمبه یافت شده‌اند (۳۷، ۱۷). استقرار و حفظ جمعیت پایدار متانوژن‌ها توسط نوع جیره و سطح و تعداد خوراک‌دهی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۱۵). رابطه همزیستی بین متانوژن‌ها و پروتوزوای مژکدار ممکن است تولیدکننده بخش اعظم گاز متان شکمبه باشد (۸). به نظر می‌رسد تحت تاثیر گاز ازون و آزاد شدن پروتئین‌ها میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده پروتئین‌ها افزایش یافته و به دلیل همزیستی این میکروارگانیسم‌ها با متانوژن‌ها، مقدار تولید گاز متان افزایش یافته است. مهار رشد باکتری‌های تجزیه کننده پروتئین و پروتوزوای می‌تواند باعث کاهش تجزیه و متابولیسم پروتئین در شکمبه و در نتیجه غلظت آمونیاک شکمبه‌ای شود (۲۶). با توجه به اینکه بخش بزرگی از ماده خشک پودر پر از پروتئین تشکیل شده است احتمالاً با شکسته شدن پیوندهای دی‌سولفیدی موجود سبب آزاد شدن پروتئین و در نتیجه با افزایش باکتری‌های پروتئولیتیک مقدار تولید متان و پروتوزوای افزایش یافته که در نهایت همه‌ی این عوامل باعث افزایش قابلیت هضم آن شده است. pH مایع شکمبه، تعادلی از غلظت اسیدهای چرب فرار عمده در شکمبه (استات، پروپیونات، بوتیرات و لاکتات)، آمونیاک، بافر و بزاق است (۳۵). هرچه میزان تخمیر شکمبه‌ای افزایش یابد، محصولات فرعی حاصل از آن یعنی اسیدهای چرب فرار نیز افزایش می‌یابد که این باعث کاهش pH شکمبه می‌شود. افزایش تخمیر با کاهش pH نشان دهنده‌ی رفتن تخمیر به سمت افزایش تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه است.

(۱۶/۴۸). تیمارهای ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه تفاوت معنی‌داری در تولید گاز متان نسبت به هم نشان ندادند. مقدار pH اگرچه از لحاظ آماری معنی‌دار نشد ولی از لحاظ عددی کاهش یافت. جمعیت پروتوزوایی در تیمارهای ۹۰ و ۱۸۰ دقیقه افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان داد ( $P < 0.05$ ). بیشترین مقدار پروتوزوای در تیمار ۱۸۰ دقیقه مشاهده شد. قابلیت هضم ماده خشک در همه تیمارها افزایش معنی‌داری نشان داد. با افزایش زمان عمل‌آوری یک روند افزایش در قابلیت هضم مشاهده شد. حلالیت پروتئین‌های طبیعی زمانی که توسط باکتری‌ها هیدرولیز می‌شود، بسیار متفاوت است (۳۸). برای پروتئین‌های با حلالیت کمتر، فرآیند آزادسازی آمونیاک کندتر است و بخش زیادی از پروتئین ممکن است بدون اینکه شکسته شود، از شکمبه به شیردان منتقل شود. چندین باکتری اصلی شناخته شده به‌عنوان تخریب کننده پروتئین شناخته شده‌اند نظیر *پری‌وتلا رومینی*، *کولا*<sup>۱</sup>، *رومینوباکتر آمیلوفیلوس*<sup>۲</sup>، *بوتیریویریو فیروسولونوس*<sup>۳</sup>، *سلنوموناس رومینانتیوم*<sup>۴</sup>، *پری‌وتلا بریانتی*<sup>۵</sup> و *استرپتوکوکوس بوویس*<sup>۶</sup> و باکتری‌های تخمیرکننده آمینو اسید نظیر *کلستریدیوم آمینوفیلوم*<sup>۷</sup>، *کلستریدیوم استیکلندی*<sup>۸</sup>، *مگاسفرا الزدینی*<sup>۹</sup>، *پری‌وتلا رومینی کولا*، *بوتیریویریو فیروسولونوس*، *سلنوموناس رومینانتیوم* و *استرپتوکوکوس بوویس* که رابطه همزیستی بالایی با متانوژن‌ها دارند (۲۹). تجزیه پروتئین خوراکی و شکار باکتری توسط پروتوزوای ممکن است نقش مهم و تأثیرگذار در تخریب پروتئین در شکمبه و غلظت آمونیاک شکمبه ایفا کند.

1. *Prevotella ruminicola*
2. *Ruminobacter amylophilus*
3. *Butyrivibrio fibrisolvens*
4. *Selenomonas ruminantium*
5. *Prevotella bryantii*
6. *Streptococcus bovis*
7. *Clostridium aminophilum*
8. *Clostridium sticklandii*
9. *Megasphaera elsdenii*

جدول ۳- تأثیر پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان‌های مختلف بر فرآیندهای تخمیری در مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون

Table 3- The effect of O<sup>3</sup> gas processed feather meal at different time intervals on fermentation parameters within 24-hour of incubation

اشتباه معیار میانگین SEM	سطح معنی‌داری p-value	گاز ازون (دقیقه) O <sup>3</sup> Gas (min)				شاهد Control	فرآیندهای تخمیری Fermentation parameters
		180	90	60	30		
0.18	0.002	16.48 <sup>a</sup>	14.84 <sup>b</sup>	14.47 <sup>b</sup>	14.09 <sup>b</sup>	10.95 <sup>c</sup>	متان Methane (g / kg DM)
0.02	0.440	6.74	6.77	6.77	6.79	6.81	pH
0.11	0.002	10.9 <sup>a</sup>	10.0 <sup>b</sup>	9.6 <sup>bc</sup>	9.6 <sup>bc</sup>	9.1 <sup>c</sup>	جمعیت پروتوزوایی (×۱۰ <sup>۹</sup> /ml) Protozoa population (×10 <sup>5</sup> /ml)
0.06	<0.0001	34.68 <sup>a</sup>	31.75 <sup>b</sup>	30.53 <sup>c</sup>	29.01 <sup>d</sup>	22.73 <sup>e</sup>	قابلیت هضم ماده خشک Degradability of DM (mg / ml500)

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند (P<۰/۰۵).

In each row data with different superscripts are statistically different (P < 0.05).

مشاهده کردند و آن را به افزایش بهره‌وری نیتروژن و الیاف در دیگر اجزای جیره نسبت دادند و بیان کردند که پودر پر تأثیر منفی بر فعالیت میکروبی نداشت (۵). محلول شدن پروتئین، معادل افزایش تجزیه‌پذیری آن در شکمبه است (۱۱). بنابراین افزایش حلالیت پروتئین‌های پودر پر و در دسترس قرار گرفتن برای باکتری‌های شکمبه دلیل افزایش تجزیه‌پذیری آن در مطالعه‌ی حاضر است. احتمالاً تحت تأثیر اکسیداسیون پیوندهای دی‌سولفیدی موجود شکسته شده و سبب آزاد شدن پلی‌پپتیدها، پپتیدها و اسیدهای آمینه شده است. زیرا بسیاری از باکتری‌ها مثل باکترئوئیدیس رومینی‌کولا<sup>۱</sup> به‌طور مستقیم از پپتیدها استفاده می‌کنند (۲۷). فرآیندهای تجزیه‌پذیری ماده خشک و ثابت نرخ عبور تیمارهای مختلف در جدول ۲ گزارش شده است. بخش محلول اگرچه از لحاظ آماری معنی‌دار نشده است، ولی با افزایش مدت زمان عمل‌آوری افزایش نشان داده است که این مقدار در شاهد (۶/۸۳) و در ۱۸۰ دقیقه (۸/۰۱) می‌باشد. بخش نامحلول با افزایش مدت زمان عمل‌آوری افزایش

کنتیک و فرآیندهای تجزیه‌پذیری ماده خشک: در جدول ۴ کنتیک تجزیه‌پذیری ماده خشک پودر پر تحت تأثیر عمل‌آوری با گاز ازون در زمان‌های مختلف گزارش شده است. تأثیر گاز ازون بر تجزیه‌پذیری ماده خشک پودر پر در زمان‌های مختلف معنی‌دار شد (P<۰/۰۵) و سبب افزایش مقدار تجزیه‌پذیری در همه‌ی تیمارها نسبت به شاهد شد. اگرچه در ساعت‌های ۲ و ۴ دقیقه تفاوت معنی‌داری بین شاهد و تیمار ۳۰ دقیقه مشاهده نشد، ولی از همان ساعت‌های اولیه در سایر تیمارها افزایش معنی‌داری در مقدار تجزیه‌پذیری ماده خشک نسبت به شاهد مشاهده شد. بیشترین مقدار تجزیه‌پذیری در ساعت ۹۶ در تیمار ۱۸۰ دقیقه (درصد ۴۸/۰۵) و کمترین مقدار در تیمار شاهد مشاهده شد (درصد ۳۲/۴۲). همانطور که در جدول نیز مشاهده می‌شود، یک روند افزایشی در تجزیه‌پذیری ماده خشک پودر پر با افزایش مدت زمان فرآوری نشان داد. محققین افزایش معنی‌داری در گوارش‌پذیری ماده خشک و ماده آلی در جیره‌های با نسبت مساوی پودر خون و پودر پر جایگزین ۵۰ درصد پروتئین خام جیره

1. *Bacteroides rumenicola*

کاهش می‌یابد که همسو با نتایج این مطالعه می‌باشد (۳۸). با توجه به موارد گفته شده می‌توان چنین بیان نمود که بخش قابل توجهی از پروتئین این فرآورده از هضم شکمبه‌ای مصون و به روده باریک منتقل شده است چون همانطوری که اشاره شد احتمالاً عمل‌آوری با ازون، ضمن شکستن پیوندهای دی-سولفیدی و افزایش بخش محلول، سبب متراکم شدن پروتئین و افزایش بخش نامحلول نیز شده است.

معنی‌داری نشان داده است ( $P < 0.05$ ). تجزیه‌پذیری موثر در همه‌ی ثابت‌های نرخ عبور با افزایش زمان عمل‌آوری افزایش معنی‌داری نشان داده است ( $P < 0.05$ ) ولی با افزایش ثابت نرخ عبور از ۰/۰۲ به ۰/۰۸ تجزیه‌پذیری موثر در همه‌ی تیمارها کاهش یافته است. در مطالعه‌ای بیان شد که بخش سریع تجزیه پروتئین پودر پر نسبتاً کم است و با افزایش نرخ عبور، تجزیه‌پذیری موثر پروتئین خام

جدول ۴- تأثیر پودر پر عمل‌آوری شده با گاز ازون در زمان‌های مختلف بر تجزیه‌پذیری ماده خشک و ضرایب (درصد)

Table 2- The effect of O<sup>3</sup> gas processed feather meal at different time intervals on the dry mater degradability and coefficients (%)

		گاز ازون (دقیقه)						
		O <sup>3</sup> Gas (min)						
اشتباه معیار	سطح معنی‌داری	180	90	60	30	شاهد Control	زمان‌های انکوباسیون Incubation times	
SEM	p-value							
0.67	<0.0001	23.95 <sup>a</sup>	21.65 <sup>b</sup>	21.05 <sup>b</sup>	19.12 <sup>c</sup>	18.15 <sup>c</sup>	2	
0.67	<0.0001	25.88 <sup>a</sup>	24.12 <sup>ab</sup>	22.82 <sup>b</sup>	21.28 <sup>c</sup>	19.12 <sup>d</sup>	4	
0.67	<0.0001	28.15 <sup>a</sup>	26.42 <sup>ab</sup>	26.48 <sup>ab</sup>	24.88 <sup>b</sup>	21.28 <sup>c</sup>	8	
0.67	<0.0001	30.68 <sup>a</sup>	29.15 <sup>ab</sup>	27.38 <sup>b</sup>	26.75 <sup>b</sup>	22.08 <sup>c</sup>	12	
0.67	<0.0001	35.82 <sup>a</sup>	33.28 <sup>b</sup>	31.08 <sup>c</sup>	29.03 <sup>d</sup>	24.95 <sup>e</sup>	24	
0.67	<0.0001	40.65 <sup>a</sup>	36.22 <sup>b</sup>	33.98 <sup>c</sup>	30.48 <sup>d</sup>	28.02 <sup>d</sup>	48	
0.67	<0.0001	43.82 <sup>a</sup>	40.18 <sup>b</sup>	36.68 <sup>c</sup>	34.68 <sup>c</sup>	32.02 <sup>d</sup>	72	
0.67	<0.0001	48.05 <sup>a</sup>	42.15 <sup>b</sup>	38.62 <sup>c</sup>	36.44 <sup>c</sup>	32.42 <sup>d</sup>	96	
پارامتر								
Coefficients								
2.59	0.96	8.01	7.87	6.68	5.70	6.83	a (%)	
1.67	0.01	34.25 <sup>a</sup>	30.12 <sup>ab</sup>	27.99 <sup>ab</sup>	26.53 <sup>ab</sup>	22.62 <sup>b</sup>	b (%)	
0.05	0.69	0.12	0.14	0.19	0.22	0.14	c (h <sup>-1</sup> )	
0.40	<0.0001	37.65 <sup>a</sup>	33.90 <sup>b</sup>	31.48 <sup>c</sup>	29.61 <sup>c</sup>	26.32 <sup>d</sup>	ED=0.02	
0.57	<0.0001	32.66 <sup>a</sup>	29.70 <sup>b</sup>	28.10 <sup>bc</sup>	26.68 <sup>c</sup>	23.17 <sup>d</sup>	ED=0.05	
0.68	0.0003	29.11 <sup>a</sup>	26.77 <sup>ab</sup>	25.64 <sup>b</sup>	24.48 <sup>b</sup>	20.99 <sup>c</sup>	ED=0.08	

در هر ردیف میانگین‌های با حروف متفاوت از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

In each row data with different superscripts are statistically different ( $P < 0.05$ ).

با گاز ازون به مدت ۱۸۰ دقیقه توصیه می‌شود. مطالعات بیشتر در زمینه افزایش مدت زمان عمل‌آوری و استفاده از اکسیژن هوا در جهت افزایش هرچه بیشتر تجزیه‌پذیری این پسماند زیستی با ارزش مورد نیاز می‌باشد.

### نتیجه‌گیری

با نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که فرآوری پودر پر با استفاده از گاز ازون سبب افزایش تجزیه‌پذیری ماده خشک و ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود. با توجه به اینکه بهترین نتایج در تیمار ۱۸۰ دقیقه بدست آمده است بنابراین عمل‌آوری

## منابع

1. AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Office. Anal.Chem. Washington. DC.
2. Bas, F.J., Stem, M.D. and Merchen, N.R. 1989. Influence of protein supplementation of alkaline hydrogen peroxide-treated wheat straw on ruminal microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 72:12-17.
3. Cherry, J., Young, C. and Shewfelt, A. 1975. Characterization of protein isolates from keratinous material of poultry feathers. Journal of Food Science. 40:331-335.
4. Cohlberg, J. A. 1993. The structure of  $\alpha$ -keratin. Trends in Biochemical Sciences. 18:360-362.
5. Cozzi, G., Andrighetto, I., Berzaghi, P. and Andreoli, D. 1995. Feather and blood meal as partial replacer of soybean meal in protein supplements for sheep. Small Ruminant Research. 15:239-245.
6. Demeyer, D., De Meulemeester, M., De Graeve, K. and Gupta, B.W. 1988. Effect of fungal treatment on nutritive value of straw. Medical Faculteit, Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent. 53:1811-1819.
7. Dehority, B.A. 1984. Evaluation of subsampling and fixation procedures used for counting rumen protozoa. Journal of Eukaryotic Microbiology. 48:182-185.
8. Finlay, B.J., Esteban, G. and Clarke, K.J. 1994. Some rumen ciliates have endosymbiotic methanogens. FEMS Microbiology Letters. 117:157-162.
9. Grazziotin, A., Pimentel F., De Jong, E. and Brandelli, A. 2006. Nutritional improvement of feather protein by treatment with microbial keratinase. Animal Feed Science and Technology. 126:135-144.
10. Getachew, G., Makkar, H.P.S. and Becker, K. 2002. Tropical browses: content of phenolic compounds, *in vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acids and *in vitro* gas production. Journal of Agricultural Research. 139:341-352.
11. Henderickx, H. and Martin, J. 1963. *In vitro* study of the nitrogen metabolism in the rumen. Comptes Rendus de Recherches. 31:7-117.
12. Khalilvandi-Behroozyar, H., Rezayazdi, K. and Dehghan-Banadaky, M. 2011. Effects of Processing Methods on Sainfoin Digestibility, Degradability and Rumen and Blood Parameters of Holstein Dairy Cows. Journal of Animal Science Research, 21:90-103. (In Persian)
13. Kornilowicz-Kowalska, T. and Bohacz, J. 2011. Biodegradation of keratin waste: Theory and practical aspects. Waste Management. 31:1689-1701.
14. Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y. and Ozay, O. 2005. *In situ* ruminal dry matter and crude Protein degradability of plant- and animal-derived protein sources in Southern Turkey. Small Ruminant Research. 58:135-141.
15. Kumar, S., Dagar, S.S. and Puniya, A.K. 2012. Isolation and characterization of methanogens from rumen of Murrah buffalo. Ann Microbial. 62:345-350.
16. Latshaw, J. 1990. Quality of feather meal as affected by feather processing conditions. Poultry Science. 69:953-958.
17. Lange, M., Westermann, P. and Ahring, B.K. 2005. Archaea in protozoa and metazoan. Applied Microbiology and Biotechnology. 66:465-474.
18. Moradi, M., Afzalzadeh, A., Behgar, M. and Norouzian, M. 2015. The effect of diets containing pistachio by products treated with electron irradiation, NaOH, and PEG on nutrients digestibility and performance of finishing Zandi lambs. Iranian Journal of Animal Science Research. 7(3):278-284. (In Persian).
19. Marghazani, I.B., Jabbar, M.A., Pasha, T.N. and Abdullah, M. 2013. Ruminal degradability characteristics in animal protein sources of Pakistan. The Journal of Animal and Plant Sciences. 23:1264-126.
20. Menke, K.H., Rabb, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed stuffs from

- the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science Camb. 93:217-222.
21. 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. 28:3.7-55.
  22. Menke, K.H., Rabb, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. and Schnider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feed stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. Journal of Agricultural Science. Camb. 93(1):217-222.
  23. NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
  24. Ørskov, E.R. and McDonald, L. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. Journal of Agricultural Science Camb. 92(1):499-503.
  25. Poel, A.F.B. 2000. Handbook of Poultry Feed from Waste: Processing and Use, Springer.
  26. Patra AK, Y.Z. 2014. Effects of vanillin, quill Aja saponin, and essential oils on *in vitro* fermentation and protein-degrading microorganisms of the rumen. Appl Microbiol Biotechnol. 98:897-905.
  27. Pittman K. and Bryant M. 1964. Peptides and other nitrogen sources for growth of *Bacteroides rumenicola*. Journal of Bacteriology. 88:401-410.
  28. Rajae Rad, A., Ahmadi, F., Zamiri, M.J. and Sari, M. 2015. Evaluation of ruminant diets containing lime-hydrolyzed feather meal substituted with soybean meal using *in vitro* gas production technique. Animal Production Research. 4:13-24. (In Persian)
  29. Russell, J.B. 1998. Strategies that ruminal bacteria use to handle excess carbohydrate. Journal of Animal Science. 79:1963-1975.
  30. SAS Institute. 2003. STAT user's guide: Statistics. Version 9.1. Cary, NC: Statistical Analysis System Institute.
  31. Schroeder, J.M. 1999. By products and regionally available alternative feedstuffs for dairy cattle. Extension dairy specialist, NDSU animal and range science NDSU Extension service. AS-1180.
  32. Sawyer, R.H., Glenn, T., French, J.O., Mays, B., Shames, R.B., Barnes, G.L., Rhodes, W. and Ishikawa, Y. 2000. The expression of beta ( $\beta$ ) keratins in the epidermal appendages of reptiles and birds. American Zoologist. 40:530-539.
  33. Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., McAllan, A. 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.
  34. Tagliapietra, F., Cattani, M., Hansen, H., Hindrichsen, I., Bailoni, L. and Schiavon, S. 2011. Metabolizable energy content of feeds based on 24 or 48 h *in situ* NDF digestibility and on *in vitro* 24 h gas production methods. Animal Feed Science and Technology. 170(3):182-191.
  35. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in ration to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74:3583-3597.
  36. Wolin, M. 1960. A theoretical rumen fermentation balance Journal of Dairy Science. 43: 1452-1459.
  37. Wollin, M.J., Miller, T.L. and Stewart, C.S. 1997. Microbe-microbe interactions- In: Hobson PN, Stewart CS (eds) The rumen microbial ecosystem- Chapman and Hall, London. Pp:467-488.
  38. Zarnegar, Z., Ebrahimi, S., Samadpour, M., Sheykholslami, S.M.A. and Seyed Hadi Ebrahimi, S.M.A. 2018. 2<sup>nd</sup> National Congress on Advanced Research in Animal Science. University of Birjand.



Gorgan University of Agricultural  
Sciences and Natural Resources

*J. of Ruminant Research*, Vol. 9(2), 2021  
<http://ejrr.gau.ac.ir>

## Evaluation of the effect of ozone gas processing on the nutritional value of feather meal in ruminant nutrition using *in vitro* and *in situ* nylon bags techniques

B. AsadNejad<sup>1</sup>, \*R. Pirmohammadi<sup>2</sup> and H. Khalilvandi-Behroozyar<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Ph.D. Student, <sup>2</sup>Professor, and <sup>3</sup>Assistant Prof., Dept. of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 01/11/2021; Accepted: 02/22/2021

### Abstract

**Background and objectives:** The use of bio-waste in animal feed reduces feed costs. In addition, their application reduces environmental pollution caused by the disposal of this waste. Feather makes up about 10% of a bird's weight. The 90% of full weight contains keratin, which is rich in the serine amino acids cysteine, glycine, alanine, and threonine. The strength of fibrous protein is due to its high hydrogen, disulfide bonds, and low hydrophilicity, which makes keratin insoluble and stable against degradation by enzymes such as trypsin and pepsin. Although the poultry industry in the country is expanding day today, there are no plans to process and return this valuable product to the production cycle. Therefore, the purpose of this study was evaluation the effect of ozone gas processing on the nutritional value of feather meal in ruminant nutrition using *in vitro* and *in situ* nylon bags techniques.

**Materials and methods:** To process the feather meal with ozone gas, a reactor was designed and built with a capacity of withstanding the pressure of 2 bars. The processing reactor was a double-walled steel tank with a steel surface with a capacity of 1 kg. An ozone generator with a capacity of ten grams of ozone per hour was connected to it and an oxygen capsule was used to supply the oxygen needed by the device and also to increase the pressure inside the reactor. Experimental treatments include: control (without processing), ozone-processed feather meal in 30 minutes, ozone-processed feather meal in 60 minutes, ozone-processed feather meal in 90 minutes, and ozone-processed feather meal in 180 minutes. To determine the degradability coefficients of dry matter, three fistulated Holstein male steers were used to prepare and incubate the samples *in situ* within the rumen. To determine the effect of processing on the amount of gas produced in the laboratory, the pressure of the produced gas was determined in three separate cycles and three repetitions per sample in each run. A randomized complete block design (livestock effect as a block) was used to evaluate the data related to degradability.

**Results:** Feather meal dry matter under the influence of ozone gas showed a significant decrease in treatments of 60, 90, and 180 minutes ( $P < 0.05$ ). The amount of ether extract under the influence of ozone gas processing significantly increased in treatments 60, 90, and 180 minutes ( $P < 0.05$ ). The amount of crude protein in the treatment of 180 minutes showed a significant increase compared to the control ( $P < 0.05$ ), however, no significant difference was observed in other treatments. The highest amount of crude protein was observed in the treatment of 180 minutes (79.35%) and the lowest amount was observed in the control treatment (78.46%). The amount of ash was not affected by the ozone treatment. Ozone gas processing increased the amount of gas production ( $P < 0.05$ ). The gas production of the insoluble part showed a significant increase in all processing times compared to the control ( $P < 0.05$ ). The decomposition rate constant showed a significant decrease in the 180-minute treatment ( $P < 0.05$ ). There was a significant increase in methane production volume and dry matter

---

\*Corresponding author; [r.pirmohammadi@urmia.ac.ir](mailto:r.pirmohammadi@urmia.ac.ir)

digestibility of all treatments ( $P < 0.05$ ). The highest amount of methane production was observed in the treatment of 180 minutes (16.48). The pH value was not significant. The protozoan population in 90 and 180 min treatments showed a significant increase compared to the control ( $P < 0.05$ ). Dry matter degradability showed a significant increase in all treatments ( $P < 0.05$ ). The highest amount of dry matter degradability was observed at 96 hours in 180 minutes' treatment (48.05%) and the lowest amount was observed in the control treatment (32.42%). The insoluble part showed a significant increase with increasing frequency ( $P < 0.05$ ). Effective degradability in all passage rate constants showed a significant increase with increasing processing time ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the results of this experiment, it can be concluded that processing feather meal using ozone increases its dry matter degradability and nutritional value. Future studies are needed to increase the processing time and use of oxygen in the air.

**Keywords:** Feather meal, Gas production, Nylon bag technique, Ozone Gas