



Research Article

Vol. 17, No.3, 2025, p. 259-272

***In vitro* Ruminal Fermentation of Diets Containing Sugarcane Bagasse Treated with Ammonia and Sodium Hydroxide at Different Times**

Ehsan Rashnoo¹, Farshid Fatahnia¹, Seyyed Reza Mousavi¹, Yahya Mohammadi¹, Mohammad Shamsollahi^{1*}, Parisa Darat¹

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

*Corresponding Author's Email: m.shamsollahi@ilam.ac.ir

How to cite this article:

Received: 06-02-2025
Revised: 21-05-2025
Accepted: 25-05-2025
Available Online: 05-10-2025

Rashnoo, E., Fatahnia, F., Mousavi, S. R., Mohammadi, Y., shamsollahi, M., & Darat, P. (2025). *In vitro* ruminal fermentation of diets containing sugarcane bagasse treated with ammonia and sodium hydroxide at different times. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 17(3), 259-272. (in Persian with English abstract)

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.91986.1236>

Introduction: Due to reduced rainfall and degradation of rangelands, some portion of ruminant feed is provided by agricultural by-products such as cereal straws and sugarcane bagasse (SB). A key strategy for achieving environmentally sustainable added value and providing animal feed is to convert agricultural by-products into animal feed. Sugarcane is one of the most important economic crops worldwide and is mostly used as a raw material in the sugar industry and it is produced in more than 100 countries around the world. Its biomass can be used as animal feed in many countries more than any other forage. The SB is one of the fibrous residues that remain after water extraction from the sugarcane stalk and can be used as a source of fodder for ruminants. However, it has been reported that these by-products have low protein (less than 3% on DM basis), high cellulose (more than 40% on DM basis), high hemicellulose (more than 35% on DM basis), high lignin (15% on DM basis), and low DM digestibility (20-30%). Some livestock producers use unprocessed SB in ruminant nutrition, which is not accompanied by desirable results on animal performance. Various methods including physical, chemical, and biological processing are used to change the physical and chemical nature of SB to improve its digestibility and nutritive value. Therefore, the current study aimed to investigate the effect of diets containing sugarcane bagasse (SB) treated with ammonia (NH₃) and sodium hydroxide (NaOH) for different times on chemical composition, ruminal fermentation parameters and dry matter (DM) and organic matter (OM) digestibility by gas production method.

Materials and Methods: The SB samples were obtained from a sugarcane factory located in Khuzestan province and treated with NH₃ and NaOH for 30 or 45 days under anaerobic condition. Experimental diets were 1- diet containing untreated SB stored for 30 days (Control-30), 2- diet containing treated SB with 5% NH₃ and stored for 30 days (NH₃ 5%-30), 3- diet containing treated SB with 4% NH₃ and 1% NaOH and stored for 30 days (NH₃ 4% + NaOH 1%-30), 4- diet containing treated SB with 3% NH₃ and 2% NaOH and stored for 30 days (NH₃ 3% + NaOH 2%-30), 5- diet containing untreated SB stored for 45 days (Control-45), 6- diet containing treated SB with 5% NH₃ and stored for 45 days (NH₃ 5%-45), 7- diet containing treated SB with 4% NH₃ and 1% NaOH solution stored for 45 days (NH₃ 4% + NaOH 1%-45) and 8- diet containing treated SB with 3% NH₃ and 2% NaOH solution stored for 45 days (NH₃ 3% + NaOH 2%-45). Experiment conducted by gas production (GP) technique based on completely randomized design based on 2×4 factorial. The chemical composition of soybean (DM, OM, crude



©2025 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source.

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.91986.1236>

protein [CP], and neutral detergent fiber) treated with different methods was analyzed after processing. Subsequently, in vitro ruminal fermentation parameters—including 24- and 96-hour gas production (GP), partitioning factor, efficiency of microbial mass production, methane production, and DM and OM digestibility were evaluated.

Results and Discussion: The results showed that treatment of SB with 5% NH₃ or 4% NH₃ and 1% NaOH and stored for 45 days had higher OM content than others ($P<0.05$). The greatest crude protein (CP) content was observed in SB treated with 5% NH₃ and stored for 30 or 45 days ($P<0.05$). The lowest neutral detergent fiber (NDF) content was observed in SB treated with 4% NH₃ and 1% NaOH or 3% NH₃ and 2% NaOH for 30 days ($P<0.05$). The lowest 24 h gas production (GP) was observed for Control-30 and Control-45 ($P<0.05$). The 24 h GP production of diets was increased with increasing NaOH for treating SB ($P<0.05$). Methane production, partitioning factor and efficiency of microbial mass production did not influence by processing method, storage time and their interaction ($P>0.05$). The greatest OM digestibility was observed for NH₃ 3%+ NaOH 2%-30 diet ($P<0.05$). The greatest GP potential was observed for NH₃ 3% + NaOH 2%-30 and NH₃ 3% + NaOH 2%-45 diets ($P<0.05$). The lowest lag time was observed for NH₃ 3% + NaOH 2%-30 and NH₃ 3% + NaOH 2%-45 diets ($P<0.05$).

Conclusion: In general, according to these results, it seems that processing of SB with 3% NH₃ and 2% NaOH solution and storage for 30 days had better effect on its nutritive value.

Keywords: Ammonia, Ruminal fermentation parameters, Sodium hydroxide, Sugarcane bagasse

تخمیر برون تنی جیره‌های دارای باگاس نیشکر فراوری شده با آمونیاک و سدیم هیدروکسید در زمان‌های مختلف

احسان رشنو^۱، فرشید فتاح‌نیا^۱، سید رضا موسوی^۱، یحیی محمدی^۱، محمد شمس الهی^{۱*}، پریسا دارات^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۴

چکیده

هدف از مطالعه حاضر، بررسی فرآیندهای تخمیر برون تنی و گوارش پذیری ماده خشک و ماده آلی جیره‌های دارای باگاس نیشکر فراوری شده با آمونیاک و سدیم هیدروکسید و ذخیره شده برای ۳۰ یا ۴۵ روز بود. نمونه‌های باگاس استفاده شده در جیره‌های آزمایشی شامل باگاس فراوری نشده، باگاس فراوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد، باگاس فراوری شده با محلول آمونیاک چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد و باگاس فراوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد بودند. بیشترین محتوای ماده آلی در باگاس فراوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد یا آمونیاک چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره شده برای ۴۵ روز مشاهده شد. باگاس فراوری شده با آمونیاک پنج درصد و ذخیره شده برای ۳۰ یا ۴۵ روز محتوای پروتئین بیشتری داشت. کمترین محتوای الیاف شوینده خنثی در باگاس فراوری شده با آمونیاک پنج درصد یا آمونیاک اوره چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره شده برای ۳۰ روز مشاهده شد. بیشترین میزان گاز تجمعی ۲۴ ساعت، قابلیت هضم ماده آلی و ماده خشک و پتانسیل تولید گاز و همچنین کمترین زمان تأخیر به جیره دارای باگاس فراوری شده با آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره شده برای ۳۰ یا ۴۵ روز ارتباط داشت. با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد که فراوری با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره به مدت ۳۰ روز، روش مناسب تری برای فراوری باگاس نیشکر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین خام، توده میکروبی، فراسنجه‌های تخمیر برون تنی، قابلیت هضم

مقدمه

کنند، اما در حال حاضر به دلیل کمبود مواد مغذی، قابلیت هضم پایین، حجیم بودن و هزینه‌های حمل و نقل بالا، کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. هر چند که برخی دامداری‌های کوچک بدون انجام هیچ گونه فراوری از آن‌ها استفاده می‌کنند که بر عملکرد دام تأثیر منفی دارد (Madadi et al., 2023). یکی از این محصولات فرعی که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است و به دلیل ارزان بودن به طور گسترده به عنوان جایگزین کاه گندم در واحدهای صنعتی و نیمه صنعتی پرورش دام استفاده می‌شود، باگاس یا تفاله نیشکر است. باگاس یا تفاله نیشکر به بقایای الیافی ساقه نیشکر پس از خرد کردن و عصاره گیری گفته می‌شود (Brendt et al., 2002). در ایران، سالیانه حجم انبوهی از باگاس نیشکر به خصوص در استان خوزستان تولید می‌شود. هر چند که مصرف باگاس به عنوان بخشی از مواد الیافی جیره غذایی دام مرسوم شده است، اما قابلیت هضم و تجزیه پذیری آن به دلیل ماهیت فیزیکی-شیمیایی و بالا بودن محتوای لیگنین بسیار پایین است و استفاده زیاد از آن در جیره باعث کاهش مصرف خوراک، اختلالات گوارشی و کاهش عملکرد حیوان خواهد شد (Shahbazi et al., 2009). یکی از راهکارهای افزایش

ایران جزء مناطق خشک و نیمه خشک بیابانی محسوب می‌شود و با کمبود محصولات زراعی و علوفه‌ای مواجه است که باعث می‌شود دامپروران همواره با کمبود منابع خوراک دام روبه‌رو شوند. گاهی اوقات دسترسی به علوفه‌های با کیفیت بالا به دلیل بالا بودن هزینه تهیه آن‌ها، شرایط نامساعد جوی یا کمبود زمین و آب به ویژه در مناطق خشک جهان، محدود است. بنابراین، یافتن و شناسایی مواد خوراکی جدید برای پرورش حیوانات مزرعه‌ای و تعیین ارزش غذایی آن‌ها و همچنین تعیین احتیاجات غذایی حیوانات همیشه مورد توجه متخصصان و پژوهشگران علوم دامی بوده است. یکی از راهکارهای برطرف کردن مشکلات مربوط به تهیه خوراک، استفاده از پسماندها یا محصولات فرعی زراعی یا صنعتی می‌باشد. پسماندهای محصولات کشاورزی می‌توانند بخش مهمی از خوراک نشخوارکنندگان را تأمین

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: m.shamsolahi@ilam.ac.ir)
<https://doi.org/10.22067/IJASR.2025.91986.1236>

دمای اتاق و در دورن نایلون سیلو شدند. پس از زمان مورد نظر، نمونه‌ها از درون نایلون خارج و به مدت پنج روز در معرض هوا قرار گرفتند و پس از خشک شدن کامل برای آنالیز شیمیایی ذخیره شدند. جیره‌های آزمایشی برای بره‌های پرواری (NRC, 2007) تهیه و آماده شدند. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره دارای باگاس فرآوری نشده و ذخیره شده به مدت ۳۰ روز، ۲- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ روز، ۳- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ روز، ۴- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ روز، ۵- جیره دارای باگاس فرآوری نشده و ذخیره شده به مدت ۴۵ روز، ۶- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد و ذخیره شده به مدت ۴۵ روز، ۷- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره شده به مدت ۴۵ روز و ۸- جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره شده به مدت ۴۵ روز بودند. مواد خوراکی تشکیل دهنده جیره در جدول ۱ آمده است.

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی

محتوای ماده خشک، ماده آلی و پروتئین خام نمونه‌های باگاس براساس روش‌های استاندارد (AOAC, 2007) و الیاف شوینده خنثی نمونه‌ها براساس روش پیشنهادی ون سوست (Van Soest et al., 1991) اندازه‌گیری شد.

آزمون تولید گاز ۲۴ و ۹۶ ساعت

برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز، مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از دو رأس گاو هلشتاین بالغ جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز از روش بلومل و همکاران (Blummel et al., 1997) و منک و همکاران (Menke et al., 1979) استفاده شد. برای آزمون تولید گاز ۲۴ ساعت، ۵۰۰ میلی گرم و برای آزمون تولید گاز ۹۶ ساعت، ۲۰۰ میلی گرم وزن خشک از هر کدام از جیره‌های آزمایشی به درون بطری‌های ۱۲۰ میلی لیتری مخصوص تولید گاز ریخته و تا زمان انجام آزمایش در آون با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. لازم به ذکر است که آزمون تولید گاز ۲۴ و ۹۶ ساعت دو بار با فاصله یک هفته (Run) انجام گردید، به گونه‌ای که در نهایت برای هر جیره آزمایشی در مجموع شش تکرار در نظر گرفته شد.

قابلیت استفاده از خوراک‌های با قابلیت هضم پایین مانند باگاس در جیره نشخوارکنندگان، فرآوری آن است. روش‌های مختلف فرآوری شامل فیزیکی، شیمیایی، فیزیکی-شیمیایی، بیولوژیکی و غیره برای بهبود ارزش تغذیه‌ای پسماندهای کشاورزی استفاده می‌شود که هر کدام دارای معایب و مزایایی هستند (Chaudbry, 2000). فرآوری باعث تغییر ماهیت فیزیکی-شیمیایی این منابع خوراکی به منظور شکستن اجزاء دیواره سلولی می‌شود. بنابراین سبب بهبود قابلیت هضم آن‌ها می‌شود. از روش‌های فرآوری شیمیایی می‌توان به فرآوری با آمونیاک، سدیم هیدروکسید، کلسیم اکسید و اوره اشاره کرد (Dehghani et al., 2011). آمونیاک و سدیم هیدروکسید از جمله ترکیبات قلیایی می‌باشند که سبب شکستن پیوند لیگنین-سلولز شده و در نتیجه سبب افزایش قابلیت هضم آن می‌شوند. علاوه بر این، فرآوری با آمونیاک سبب افزایش محتوای نیتروژن باگاس نیز می‌شود. مانند سایر مواد خشبی، در مورد بهبود ارزش تغذیه‌ای باگاس نیشکر پژوهش‌هایی انجام شده است، اما اثرگذاری هر روش بستگی به عوامل مختلف مانند ترکیب شیمیایی باگاس، نوع واریته، نوع خاک و ... متفاوت خواهد بود، زیرا ترکیبات شیمیایی باگاس بسته به نوع خاک، شرایط اقلیمی، سال زراعی، نحوه برداشت و واریته آن متفاوت است (Givens et al., 1989). یکی از عواملی که ممکن است فرآوری شیمیایی باگاس را تحت تأثیر قرار دهد، مدت زمان فرآوری می‌باشد که در مورد باگاس تاکنون کار مشابهی انجام نشده است. در این پژوهش فرض شد که فرآوری باگاس نیشکر با مخلوط سدیم هیدروکسید و آمونیاک در زمان طولانی‌تر ممکن است که تأثیر بیشتری بر ارزش غذایی آن داشته باشد. بنابراین در این مطالعه، تخمیر برون تنی جیره‌های دارای باگاس فرآوری شده با محلول دارای سطوح مختلف آمونیاک و سدیم هیدروکسید به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز بررسی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

باگاس نیشکر از مجتمع کشت و صنعت هفت تپه واقع در استان خوزستان تهیه شد. نمونه‌های باگاس پس از خشک شدن در آون، توسط آسیاب دارای الک یک میلی متری خرد گردید. برای هر روش فرآوری، شش نمونه یک کیلو گرمی باگاس نیشکر در نظر گرفته شد. به هر کیلو گرم باگاس نیشکر یک لیتر محلول اضافه و کاملاً مخلوط گردید (Gunun et al., 2016). در این آزمایش، نمونه‌های باگاس با محلول آمونیاک پنج درصد، محلول آمونیاک چهار درصد و سدیم هیدروکسید یک درصد یا محلول آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد فرآوری شدند. نمونه‌های باگاس مخلوط شده با محلول مواد شیمیایی و سه نمونه شاهد برای مدت ۳۰ یا ۴۵ روز در

جدول ۱- مواد خوراکی تشکیل‌دهنده جیره پایه آزمایشی دارای باگاس فرآوری شده با روش‌های مختلف در زمان‌های متفاوت (درصد ماده خشک)

Table 1- Feed ingredients of experimental diets containing bagasse processed by different methods at different times (% DM)

ترکیب خوراکی Feed composition	روش Methods							
	زمان فرآوری ۳۰ روزه 30 days processing time				زمان فرآوری ۴۵ روزه 45 days processing time			
	روش ۴ Method 4	روش ۳ Method 3	روش ۲ Method 2	روش ۱ Method 1	روش ۴ Method 4	روش ۳ Method 3	روش ۲ Method 2	روش ۱ Method 1
باگاس (تفاله نیشکر) Bagasse (sugarcane bagasse)	15	15	15	15	15	15	15	15
علوفه خشک یونجه Alfalfa hay	10	10	10	10	10	10	10	10
کاه گندم Wheat straw	5	5	5	5	5	5	5	5
میوه بلوط Oak acorn	22	22	22	22	22	22	22	22
پودر هسته خرما Date kernel powder	8	8	8	8	8	8	8	8
دانه ذرت Corn grain	5	5	5	5	5	5	5	5
دانه جو Barley grain	5	5	5	5	5	5	5	5
ملاس Molasses	3.8	3.9	3.8	3.8	3.8	3.9	3.8	3.8
کنجاله سویا Soybean meal	3	3	3	3	3	3	3	3
پودر جوجه Chicken powder	7	7	7	7	7	7	7	7
اوره Urea	1.1	1	1.1	1.1	1.1	1	1.1	1.1
کنجاله گلوتن ذرت Corn gluten meal	1	1	1	1	1	1	1	1
پودر ماهی Fish meal	1	1	1	1	1	1	1	1
تفاله زیتون Olive pomace	8	8	8	8	8	8	8	8
سبوس گندم Wheat bran	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
سدیم بیکربنات Sodium bicarbonate	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
مکمل مواد معدنی و ویتامینی ^۱ Mineral and vitamin supplement ¹	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

۱- در هر کیلوگرم از مکمل مواد معدنی و ویتامین، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D₃، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۱۹۶ گرم کلسیم، ۹۶ گرم فسفر، ۱۹ گرم منیزیم، ۴۶ گرم سدیم، دو گرم منگنز، سه گرم آهن، سه گرم مس، سه گرم روی، ۱۰۰ میلی‌گرم کبالت، ۱۰۰ میلی‌گرمید، یک میلی‌گرم سلیوم و ۴۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان بود.

1- Each kilogram of mineral and vitamin supplement contains 500,000 IU vitamin A, 100,000 IU vitamin D₃, 100 mg of vitamin E, 196 g of calcium, 96 g of phosphorus, 19 g of magnesium, 46 g of sodium, 2 g of manganese, 3 g of iron, 3 g of copper, 3 g of zinc, 100 mg of cobalt, 100 mg of iodine, 1 mg of selenium, and 400 mg of antioxidants.

^۱ روش ۱- باگاس فرآوری نشده، ۲- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد، ۳- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ۴- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد.

¹ Method 1- unprocessed bagasse, 2- bagasse processed with 5% ammonia solution, 3- bagasse processed with 4% ammonia solution and 1% sodium hydroxide solution, and 4- bagasse processed with 3% ammonia solution and 2% sodium hydroxide solution.

برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده آلی، پس از پایان مرحله آون‌گذاری و توزین کروسبیل‌ها، کروسبیل‌ها در داخل کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت خاکستری شدند. پس از انتقال به درون دسیکاتور، وزن آن‌ها ثبت و از وزن کروسبیل خالی کم شد تا مقدار خاکستر (b) به دست آید. سپس مقدار خاکستر (b) از مقدار ماده خشک تجزیه‌نشده (a) کم شد تا ماده آلی تجزیه‌نشده (a-b) به دست آید. برای به دست آوردن مقدار و درصد ماده آلی تجزیه‌شده در طی ۲۴ ساعت باید مقدار ماده آلی ریخته‌شده در بطری (c) محاسبه شود.

معادله (۲)

ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم) $\times (100 \div \text{درصد ماده آلی نمونه خوراک}) = \text{ماده آلی ریخته‌شده در بطری (c)}$ (میلی گرم)

$$(a - b) = c = \text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)}$$

$$(a - b) = \text{ماده آلی تجزیه‌نشده}$$

اندازه‌گیری فاکتور تفکیک‌شوندگی

برای تعیین فاکتور تفکیک‌شوندگی، مقدار ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم) و حجم گاز خالص ۲۴ ساعت (میلی لیتر) مورد نیاز است. فاکتور تفکیک به شکل زیر محاسبه شد.

معادله (۳)

$$\text{فاکتور تفکیک} = \frac{\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)}}{\text{حجم گاز خالص (میلی لیتر)}} = c - (a - b) = \text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم)}$$

تخمین تولید و بهره‌وری تولید توده میکروبی

تولید و بهره‌وری تولید توده میکروبی بعد از پایان زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت (۵۰۰ میلی گرم نمونه خشک در ۴۰ میلی لیتر محیط کشت) با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد.

معادله (۴)

میلی گرم ماده خوراکی که به طور حقیقی تجزیه‌شده - (میلی لیتر حجم گاز $\times$ فاکتور استوکیومتری) = تولید توده میکروبی (میلی گرم) یا:

$$[c - (a - b)] \times \frac{24}{234} = \text{تولید توده میکروبی (میلی گرم)}$$

که در آن‌ها، c: ماده آلی ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)، (a-b): ماده آلی تجزیه‌نشده (میلی گرم) و (c - (a-b)): ماده آلی تجزیه‌شده (میلی گرم) است

اندازه‌گیری متان

در این روش، بعد از پایان انکوباسیون ۲۴ ساعت نمونه در مایع

برای تهیه بزاق مصنوعی از بافر سدیم بی‌کربنات، مکمل مواد معدنی پرمصرف، مکمل مواد معدنی کم‌مصرف، رزازورین، محلول احیاکننده و آب مقطر استفاده گردید. با استفاده از پیپت اتوماتیک، ۴۰ میلی لیتر از محیط کشت (مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) به داخل هر بطری حاوی نمونه خوراک و بطری‌های خالی (بلانک) از قبل آماده‌شده (نگهداری‌شده در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد) ریخته شد. درب هر بطری توسط درپوش لاستیکی و فلزی و با استفاده از ابزار پرس درب ویال، محکم بسته شد و برای انکوباسیون به داخل انکوباتور با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. بلافاصله بعد از انتقال تمام بطری‌ها به داخل انکوباتور، گاز تمام بطری‌ها توسط فرو کردن سرسوزن فلزی در قسمت لاستیکی درب ویال، خارج شد تا تولید گاز در ابتدای انکوباسیون، صفر شود. سپس برای آزمون تولید گاز ۲۴ ساعت، فشار گاز درون بطری‌ها در فواصل زمانی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ ساعت و برای آزمون تولید گاز ۹۶ ساعت در فواصل زمانی ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۲۰، ۳۰، ۳۶، ۴۸، ۵۴، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون توسط دستگاه فشارسنج (مدل TESTO 512) ثبت شد.

پس از ثبت گاز در هر زمان، فشار گاز توسط سرسوزن خارج شد و فشار گاز بر حسب پاسکال توسط محاسبات ریاضی تبدیل به میلی لیتر شد (Blummel et al., 1999). بعد از اینکه حجم گاز تولیدشده بطری‌ها در فواصل زمانی مختلف انکوباسیون تا پایان ۲۴ ساعت یا ۹۶ ساعت ثبت شد، تولید گاز خالص با کسر مجموع حجم گاز تولیدشده توسط نمونه خوراک در زمان‌های مختلف انکوباسیون از میانگین حجم گاز بلانک به دست آمد.

میانگین حجم گاز بلانک (ml) - مجموع حجم تولید گاز خوراک در زمان‌های مختلف انکوباسیون (ml) = حجم تولید گاز خالص (ml)

اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی

با پایان زمان آزمایش اندازه‌گیری تولید گاز (۲۴ ساعت) و ثبت میزان گاز و خالی کردن گاز، بطری‌های شیشه‌ای برای خنک شدن به یخچال با دمای سه تا پنج درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید.

معادله (۱)

$$100 \times \frac{\text{ماده خشک تجزیه‌شده (میلی گرم)} - \text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}}{\text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)}} = \text{تجزیه‌پذیری ماده خشک (\%)}$$

۱۰۰۰ $\times$ [وزن کروسبیل خالی (گرم) - وزن کروسبیل حاوی باقی‌مانده (گرم)] = ماده خشک تجزیه‌نشده (میلی گرم)
۵۰۰ میلی گرم $\times$ (۱۰۰ $\div$ درصد ماده خشک نمونه خوراک) = ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی گرم)

شکمبه و بافر فسفات، تولید گاز نهایی (پایان ۲۴ ساعت) ثبت شد. سپس چهار میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار به محتویات بطری شیشه‌ای اضافه شد تا گاز دی‌اکسید کربن را جذب کند. بعد از جذب گاز دی‌اکسید کربن (بعد از حدود ۱۰ دقیقه)، گاز باقی‌مانده در سرنگ یا بطری شیشه‌ای معادل گاز متان بود (Fievez et al., 2005).

معادله (۵)

حجم گاز باقی‌مانده در سرنگ یا بطری شیشه‌ای ۱۰ دقیقه بعد از تزریق سدیم هیدروکسید ۱۰ مولار = تولید گاز متان (میلی‌لیتر)
تولید گاز متان بلانک - تولید گاز متان نمونه = تولید گاز متان خالص (میلی‌لیتر)

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز ۹۶ ساعت

مشخصه‌های پتانسیل تولید گاز (A)، نرخ تولید گاز (C) و زمان تأخیر (Lag time) مربوط به تولید گاز ۹۶ ساعت با استفاده از نرم‌افزار SAS (۲۰۰۰) به دست آمد.

آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها به‌صورت فاکتوریل ۲×۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. عامل اول شامل انواع روش‌های فرآوری و عامل دوم شامل مدت زمان فرآوری بود. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش توکی و در سطح آماری پنج درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی باگاس

اثر روش‌های مختلف فرآوری و مدت زمان فرآوری بر ترکیب شیمیایی باگاس در **جدول ۲** آمده است. باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۳۰ روز (روش ۳) و باگاس فرآوری‌نشده و ذخیره‌شده به‌مدت ۴۵ روز (روش ۱) دارای بالاترین و باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک پنج درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۳۰ روز (روش ۲) و باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۴۵ روز (روش ۳) پایین‌ترین میزان ماده خشک را داشتند ($P < 0.05$). ماده آلی باگاس تحت تأثیر زمان فرآوری، نوع فرآوری و برهم‌کنش آن‌ها قرار گرفت، به‌طوری‌که باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک پنج درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۴۵ روز (روش ۲) و باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و

ذخیره‌شده به‌مدت ۴۵ روز (روش ۳) دارای بیشترین میزان ماده آلی بودند. محتوای الیاف شوینده خنثی باگاس تحت تأثیر زمان فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری و برهم‌کنش نوع و زمان فرآوری به‌طور معنی‌داری محتوای الیاف شوینده خنثی باگاس را تحت تأثیر قرار دادند، به‌طوری‌که باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۳۰ روز (روش ۳) و باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره‌شده به‌مدت ۳۰ روز (روش ۴) کمترین میزان الیاف شوینده خنثی را داشتند ($P < 0.05$).

دهقانی و همکاران (Dehghani et al., 2021) گزارش کردند که فرآوری باگاس نیشکر با محلول اوره باعث کاهش درصد الیاف شوینده خنثی آن شد. دیواره سلولی گیاه در اثر فرآوری با مواد شیمیایی قلیایی مانند سدیم هیدروکسید یا آمونیاک تخریب می‌شود برگر و همکاران، هیرا سالدانا و همکاران (Berger et al., 2019; Herrera Saldana et al., 1983)، هر چند میزان تخریب ممکن است که بستگی به شرایط فرآوری و نوع علوفه فرآوری‌شده، متفاوت باشد (Herrera Saldana et al., 1983). بنابراین کاهش میزان الیاف شوینده خنثی پس از فرآوری با آمونیاک و سدیم هیدروکسید را می‌توان به تجزیه اجزاء ساختاری دیواره سلولی و به‌طور ویژه همی سلولز نسبت داد. این کاهش الیاف شوینده خنثی احتمالاً می‌تواند دلیل کاهش میزان ماده خشک و ماده آلی در باگاس فرآوری‌شده در مقایسه با باگاس فرآوری‌نشده باشد. ون‌سوست (Van Soest, 1994) گزارش کرد که فرآوری شیمیایی مواد خوراکی با محلول سدیم هیدروکسید به‌خاطر فعالیت شیمیایی قوی آن باعث اتلاف و خروج بخشی از ترکیبات گیاه و بنابراین کاهش ماده خشک و ماده آلی خوراک می‌شود. در آزمایش دهقانی و همکاران (Dehghani et al., 2021)، درصد پروتئین خام باگاس نیشکر فرآوری‌شده با اوره و در آزمایش ریبریو و همکاران (Ribeiro et al., 2020) درصد پروتئین خام کاه گندم و کاه برنج فرآوری‌شده با اوره افزایش یافت. در آزمایش حاضر، افزایش محتوای پروتئین خام باگاس فرآوری‌شده با آمونیاک را می‌توان به وجود عنصر نیتروژن در ساختمان آمونیاک ارتباط داد.

جدول ۲- اثر روش‌های مختلف فرآوری و مدت زمان فرآوری بر ترکیب شیمیایی پالکس
Table 2- Effect of different processing methods and processing time on the chemical composition of bagasse

صفات Parameters	روش Method								SEM	زمان Time	فراوری Processing	P-value
	۳۰ روز فرآوری 30 days processing				۴۵ روز فرآوری 45 days processing							
	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4				
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	95.35 ^c	94.25 ^d	97.18 ^c	95.25 ^c	97.20 ^a	96.25 ^b	94.50 ^d	95.22 ^c	0.16	0.02	0.01	0.01
ماده آلی (درصد) Organic matter (%)	93.75 ^c	91.74 ^c	87.55 ^g	88.08 ^f	92.72 ^d	95.66 ^a	95.61 ^a	94.95 ^b	0.13	0.01	0.01	0.01
پروتئین خام (درصد) Crude protein (%)	2.65 ^{d,e}	4.40 ^a	3.96 ^{ab}	3.56 ^{bc}	2.53 ^e	4.34 ^a	3.09 ^{ac}	3.26 ^c	0.15	0.01	0.01	0.05
الیاف شوینده خنثی (درصد) Neutral detergent fiber (%)	91.33 ^a	89.19 ^b	87.72 ^c	87.73 ^c	90.69 ^a	88.57 ^{bc}	88.50 ^{bc}	89.00 ^b	0.34	0.42	0.01	0.02

روش ۱- پالکس فرآوری نشده، ۲- پالکس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۵٪ در مدت ۳۰ روز، ۳- پالکس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۳٪ در مدت ۴۵ روز، ۴- پالکس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۴٪ در مدت ۴۵ روز.
Method 1- unprocessed bagasse, 2- bagasse processed with 5% ammonia solution, 3- bagasse processed with 3% ammonia solution and 4- bagasse processed with 4% ammonia solution and 1% sodium hydroxide solution.

^{a,b} Means in the same rows with different superscripts are significantly different with ($P < 0.05$).

^{a,b} در هر ردیف بین اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی دار وجود دارد ($P < 0.05$).

جدول ۳- فرآیندهای تخمیر برون تنی جیره‌های دارای باگاس فرآوری شده با روش‌های مختلف^۱ در زمان‌های متفاوت
Table 3- Ruminal fermentation parameters of diets containing bagasse processed by different methods*¹ at different times

پارامترها Parameters	روش Method									
	۳۰ روز فرآوری 30 days processing				۴۵ روز فرآوری 45 days processing				SEM	
	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4	روش ۱ Method 1	روش ۲ Method 2	روش ۳ Method 3	روش ۴ Method 4	زمان Time	فرآیند Processing
تولید گاز تخمیری ۲۴ ساعت (میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک) 24-hour cumulative gas production (ml/500 mg DM)	50.47 ^c	58.22 ^b	61.19 ^{ab}	65.83 ^a	52.63 ^c	60.13 ^b	61.30 ^{ab}	63.06 ^{ab}	0.77	0.01
تولید گاز متان (میلی لیتر در ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک) Methane gas production (ml/500 mg DM)	8.34	8.91	8.59	8.79	8.85	9.07	8.73	8.20	0.95	0.98
فاکتور تفکیک‌پذیری Partitioning factor	4.68	4.61	4.60	4.51	4.45	4.38	4.73	4.33	0.27	0.49
بازده تولید بوده میکروبی (ازصد) Microbial mass production efficiency (%)	55.46	53.46	54.35	53.31	52.28	52.66	54.85	52.31	0.34	0.68
قابلیت هضم ماده خشک (ازصد) Dry matter digestibility (%)	50.61 ^b	59.85 ^a	51.38 ^b	60.82 ^a	54.87 ^b	64.39 ^a	53.89 ^b	62.41 ^a	0.07	0.01
قابلیت هضم خفشی ماده آلی (ازصد) True organic matter digestibility (%)	51.04 ^d	55.74 ^{cd}	60.16 ^{abc}	65.40 ^b	51.91 ^d	56.67 ^{bcd}	62.64 ^{abc}	63.09 ^{ab}	0.75	0.01

^۱ روش ۱- باگاس فرآوری نشده، ۲- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۳٪، ۳- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۴٪، ۴- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۵٪. روش ۱- unprocessed bagasse, 2- bagasse processed with 3% ammonia solution and 2% sodium hydroxide solution.

^{a-b}Means in the same rows with different superscripts are significantly different with ($P<0.05$).

^{a-b}در هر ردیف بین اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی دار وجود دارد ($P<0.05$).

فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی جیره‌های آزمایشی

جدول ۳ فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های دارای باگاس

فرآوری شده با روش‌های مختلف در زمان‌های متفاوت را نشان می‌دهد. تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت تحت تأثیر زمان فرآوری و برهم‌کنش زمان و نوع فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری، تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت را تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ روز (روش ۴) بیشترین و جیره‌های شاهد (جیره دارای باگاس فرآوری نشده و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز) دارای کمترین مقدار تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت بودند ($P < 0.05$). اثر نوع فرآوری، زمان فرآوری و برهم‌کنش آن‌ها بر تولید گاز متان، فاکتور تفکیک‌شوندگی و بازده تولید توده میکروبی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی تحت تأثیر زمان فرآوری و برهم‌کنش زمان و نوع فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک پنج درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۲) و جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) دارای بیشترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک و جیره شاهد (دارای باگاس فرآوری نشده و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز) و جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۳) کمترین میزان قابلیت هضم ماده آلی را داشتند. به علاوه، جیره دارای باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد ذخیره شده به مدت ۳۰ روز (روش ۴) بیشترین میزان قابلیت هضم ماده آلی و جیره‌های شاهد (جیره دارای باگاس فرآوری نشده و ذخیره شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز) کمترین مقدار قابلیت هضم ماده آلی را داشتند ($P < 0.05$).

افزودن مواد شیمیایی مانند آمونیاک و سدیم هیدروکسید به خوراک‌ها معمولاً با هدف افزایش قابلیت هضم مواد غذایی الیافی مانند باگاس نیشکر استفاده می‌شود. در واقع، هدف از فرآوری شیمیایی، شکستن ساختار پیچیده الیاف و کاهش محتوای لیگنین خوراک است که باعث افزایش دسترسی ریزجانداران شکمبه به لایه‌های زیرین لیگنین و بنابراین افزایش تجزیه‌پذیری می‌شود. این فرآوری‌ها ماتریکس لیگنین-کربوهیدرات را شکسته و اجزای سلولز و همی سلولز گیاه را برای تخریب میکروبی در دسترس ریزجانداران قرار می‌دهند (Owens & Basalan, 2016). مطابق با نتایج آزمایش حاضر، سدیم هیدروکسید به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تولید گاز

کاه برنج لیو و همکاران (Liu et al., 1999) و کاه کنجد ملک‌خاهی و همکاران (Malekikhahi et al., 2012) شد. دونگیان و همکاران (Dongyan et al., 2014) گزارش کردند که فرآوری کاه گندم با آمونیاک به‌طور قابل‌توجهی تولید گاز را افزایش داد و باعث بهبود تجزیه‌پذیری ماده خشک کاه گندم شد. فرآوری با آمونیاک، نیتروژن را برای هضم بی‌هوازی میکروبی فراهم می‌کند و بنابراین با افزایش تولید کل اسیدهای چرب فرار و بهبود نسبت مولی پروپیونات، فرایند تخمیر و تولید گاز را بهبود می‌بخشد. فرآوری مواد خوراکی الیافی با آمونیاک و سدیم هیدروکسید می‌تواند تجزیه ساختارهای پیچیده الیاف و دسترسی به مواد آلی را برای تخمیر میکروبی در شکمبه افزایش داده و بنابراین باعث بهبود قابلیت هضم شوند (Wong et al., 2018). مطالعات مختلف بهبود قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی خوراک‌های الیافی در اثر فرآوری با محلول‌های شیمیایی مختلف را گزارش کردند. برای مثال، افزایش قابلیت هضم ماده آلی باگاس نیشکر فرآوری شده با محلول آمونیاک اوکانو و همکاران (Okano et al., 2005) یا سدیم هیدروکسید سینگ و جکسون، پلاین (Singh, 1971; & Jackson, 1984; Playne, 2005)، افزایش قابلیت هضم ماده خشک کاه گندم هیراسالدانا و همکاران، دونگیان و همکاران (Herrera-Saldana et al., 1983; Dongyan et al., 2014) یا کاه برنج لیو و همکاران (Liu et al., 1999) فرآوری شده با سدیم هیدروکسید یا اوره گزارش شده است. این نتایج اثرات مثبت آمونیاک و سدیم هیدروکسید را بر توانایی هضم ماده آلی در منابع الیافی نشان می‌دهند. این ترکیبات به شکستن ساختارهای پیچیده فیبر کمک می‌کنند، ماده آلی را برای تخمیر میکروبی قابل دسترسی‌تر می‌کنند و قابلیت هضم آن را بهبود می‌بخشند. افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در مواد خوراکی فرآوری شده نسبت به شاهد نشان‌دهنده اثر آمونیاک و سدیم هیدروکسید بر افزایش میزان قابلیت هضم خوراک نسبت به مواد خوراکی فرآوری نشده است. قابلیت هضم یک خوراک همبستگی بالایی با ترکیبات تشکیل‌دهنده آن خوراک دارد، به‌طوری‌که با افزایش محتوای الیاف شوینده خنثی و اسیدی یا لیگنین در خوراک، قابلیت هضم کاهش می‌یابد (Van Soest, 1991). در مطالعه حاضر، فرآوری‌ها به‌طور معنی‌داری باعث کاهش محتوای الیاف شوینده خنثی در باگاس شدند که احتمالاً می‌تواند دلیل افزایش قابلیت هضم باگاس در اثر فرآوری باشد. به‌طور کلی، محلول‌های آمونیاک و سدیم هیدروکسید با تخریب دیواره سلولی گیاه و سست کردن پیوندهای بین لیگنین، سلولز و همی سلولز، باعث افزایش دسترسی ریزجانداران شکمبه به لایه‌های زیرین لیگنین یعنی سلولز و همی سلولز شده، و از این طریق باعث افزایش تخمیر و تولید گاز و در نتیجه افزایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم ماده خشک یا ماده آلی باگاس شد.

جدول ۴- مشخصه‌های تولید گاز جیره‌های دارای باگاس فرآوری شده با روش‌های مختلف^۱ در زمان‌های متفاوت
Table 4- Gas production parameters of diets containing bagasse processed by different methods¹ at different times

پارامترها Parameters	روش Method								P-value		
	۳۰ روز فرآوری 30 days processing				۴۵ روز فرآوری 45 days processing						
	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴	Method 1 روش ۱	Method 2 روش ۲	Method 3 روش ۳	Method 4 روش ۴			
تولید گاز: تجمعی ۹۶ ساعت (میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) 96-hour cumulative gas production (ml/200 mg DM)	54.37	51.83	54.82	57.37	55.90	52.88	55.60	57.78	1.47	0.01	0.95
A (پتانسیل تولید گاز: میلی لیتر در ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک) A (Gas production potential ml/200 mg DM)	3.89 ^d	4.76 ^c	5.03 ^c	6.01 ^a	4.13 ^d	4.96 ^c	5.61 ^b	6.06 ^a	0.12	0.01	0.02
C (نرخ تولید گاز: میلی لیتر در ساعت) C (gas production rate; ml/hour)	0.22	0.22	0.21	0.15	0.18	0.17	0.15	0.18	0.02	0.40	0.19
زمان تأخیر (ساعت) Lag time (hours)	0.89 ^a	0.30 ^{bc}	0.43 ^{abc}	0.00 ^c	0.65 ^{ab}	0.19 ^{bc}	0.11 ^c	0.00 ^c	0.15	0.01	0.05

روش ۱- باگاس فرآوری نشده، ۲- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۴٪، ۳- باگاس فرآوری شده با محلول آمونیاک ۵٪، ۴- باگاس فرآوری شده با محلول سدیم هیدروکسید ۲٪ درسد.

Method 1- Unprocessed bagasse, 2- Bagasse processed with 4% ammonia solution, 3- Bagasse processed with 5% ammonia solution, and 4- Bagasse processed with 2% sodium hydroxide solution.

^{a-b} در هر ردیف بین اعداد با حروف متفاوت اختلاف معنی دار وجود دارد (P<0.05).

^{ab} Means in the same rows with different superscripts are significantly different with (P<0.05).

مشخصه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی

جدول ۴ مشخصه‌های تولید گاز جیره‌های دارای باگاس فرآوری‌شده با روش‌های مختلف در زمان‌های متفاوت را نشان می‌دهد. تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز تحت تأثیر زمان فرآوری و برهم‌کنش زمان و نوع فرآوری قرار نگرفت ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز را تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که جیره دارای باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد ذخیره‌شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) بیشترین تولید گاز تجمعی ۹۶ و پتانسیل تولید گاز را داشتند ($P < 0.05$). نرخ تولید گاز تحت تأثیر زمان فرآوری، نوع فرآوری و برهم‌کنش آن‌ها قرار نگرفت ($P > 0.05$). زمان فرآوری و برهم‌کنش زمان و نوع فرآوری، زمان تأخیر را تحت تأثیر قرار نداد ($P > 0.05$)، اما نوع فرآوری، زمان تأخیر را تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که بین جیره‌های آزمایشی، جیره شاهد (جیره دارای باگاس فرآوری‌نشده و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز) بیشترین و جیره‌های دارای باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک سه درصد و محلول سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ یا ۴۵ روز (روش ۴) و جیره دارای باگاس فرآوری‌شده با محلول آمونیاک چهار درصد و محلول سدیم هیدروکسید یک درصد و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز (روش ۳)، کمترین زمان تأخیر را داشتند ($P > 0.05$). تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز تحت تأثیر ترکیب خوراک شامل محتوای کربوهیدرات، ترکیب الیاف و سایر اجزای قابل تخمیر می‌باشد. ترکیبات مختلف خوراک به دلیل تفاوت در ترکیب مواد مغذی و قابلیت تخمیر، پتانسیل تولید گاز متفاوتی دارند. پتانسیل تولید گاز یک مشخصه مهم در ارزیابی ارزش غذایی خوراک است، زیرا نشانه‌هایی از تخمیرپذیری و در دسترس بودن انرژی آن‌ها در شکمبه را ارائه می‌دهد. علاوه بر آن می‌توان از آن برای مقایسه خوراک‌های مختلف و ارزیابی مناسب بودن آن‌ها در جیره نشخوارکنندگان استفاده کرد (Sallam et al., 2007). همسو با نتایج مطالعه حاضر، مانیوچی و همکاران (Manyuchi et al., 1992) گزارش کردند که فرآوری کاه جو با آمونیاک به‌طور معنی‌داری تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت را افزایش داد. فرآوری باگاس با محلول آمونیاک و سدیم هیدروکسید از طریق شکستن دیواره سلولی و سست کردن پیوند لیگنین با سلولز و همی‌سلولز باعث افزایش دسترسی آنزیم‌های میکروبی به کربوهیدرات‌های ساختمانی موجود در لایه‌های زیرین لیگنین و در نتیجه افزایش تخمیر و تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و افزایش پتانسیل تولید گاز باگاس فرآوری‌شده در مقایسه با جیره‌های شاهد شد. از سوی دیگر، پتانسیل تولید گاز با محتوای الیاف

شوینده خنثی رابطه عکس دارد ون سوست (Van Soest, 1994)، بنابراین کاهش محتوای الیاف شوینده خنثی در باگاس فرآوری‌شده با آمونیاک یا سدیم هیدروکسید در مقایسه با باگاس فرآوری‌نشده احتمالاً می‌تواند دلیل افزایش تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز جیره‌های دارای باگاس فرآوری‌شده باشد.

زمان تأخیر تولید گاز نشان‌دهنده زمان مورد نیاز برای جمعیت میکروبی در شکمبه است تا شروع به تولید مقادیر قابل توجهی گاز به‌عنوان محصول جانبی فعالیت‌های متابولیکی خود کنند (Van Soest, 1991). هر چه این زمان کمتر باشد نشان‌دهنده فرآوری بهتر منابع علوفه‌ای است (Van Kujik et al., 2016). زمان تأخیر تولید گاز تحت تأثیر ترکیب و ساختار خوراک و همچنین جمعیت میکروبی و توانایی آن‌ها در تجزیه اجزای خوراک است. مواد الیافی خوراک، معمولاً به دلیل ساختار الیافی پیچیده و مقاوم، زمان تأخیر بیشتری دارند. از آنجاکه قابلیت هضم چنین مواد خوراکی نیز پایین است، بنابراین طولانی‌تر بودن زمان تأخیر به‌ویژه زمانی که سطح مصرف خوراک بالا باشد، موجب می‌شود که بخش بیشتری از خوراک بدون هضم از شکمبه عبور می‌کند (Sahnoun et al., 1991). در مطالعه حاضر، فرآوری باگاس با آمونیاک و سدیم هیدروکسید باعث کاهش زمان تأخیر شد که می‌تواند بیانگر مطلوب بودن فرآوری‌ها باشد و احتمالاً دلیل آن تخریب ساختمان دیواره سلولی باگاس و افزایش دسترسی سریع‌تر آنزیم‌های باکتریایی به سلولز و همی‌سلولز و در نتیجه شروع سریع‌تر تخمیر باشد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج آزمایش حاضر نشان داد که فرآوری باگاس در مقایسه با عدم فرآوری آن باعث بهبود قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و افزایش تولید گاز ناشی از تخمیر خوراک در مایع شکمبه شد. از بین روش‌های مختلف فرآوری، بیشترین میزان تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و کمترین زمان تأخیر در جیره دارای باگاس فرآوری‌شده با آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد مشاهده شد. از آنجایی‌که زمان فرآوری تأثیر معنی‌داری بر بهبود فراسنجه‌های تخمیر برون‌تنی باگاس فرآوری‌شده با آمونیاک و سدیم هیدروکسید نداشت، بنابراین استفاده از محلول آمونیاک سه درصد و سدیم هیدروکسید دو درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز برای فرآوری باگاس پیشنهاد می‌شود.

References

1. AOAC. (2007). Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlin, VA, USA, 1230.
2. Berger, L. L., Klopfenstein, T. J., & Britton, R. A. (2019). Factors causing greater *in-vitro* than *in-vivo* digestibility of sodium hydroxide-treated roughages. In Proceedings of the XIV International Grassland Congress, Boca Raton, p. 617-619.
3. Brendt, A., Lanna, W. H., & Duarte, D. P. (2002). High ureacorn, sugarcane bagasse and corn silage in high concentrate diets: 2. Empty body chemical composition and tissues deposition rates. *Braslian Zootechnology*, 31(5), 2105-2112.
4. Chaudbry, A. S. (2000). Rumen degradation in succo in sheep of wheat straw treated with calcium oxide, sodium hydroxide and sodium hydroxide plus hydrogen peroxide. *Animal Feed Science and Technology*, 83, 313-323. [http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00134-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00134-0).
5. Dehghani, M., Afzalzadeh, A., & Norouzi, M. (2011). Investigation of the chemical composition and rumen degradability parameters of wheat straw and sugarcane bagasse treated with urea. *Animal Production*, 23(2), 191-200. (In Persian).
6. Dongyan, Y. A. N. G., Yunzhi, P. A. N. G., Hairong, Y. U. A. N., Shulin, C. H. E. N., Jingwei, M. A., Liang, Y. U., & Xiujin, L. I. (2014). Enhancing biogas production from anaerobically digested wheat straw through ammonia pretreatment. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 22(5), 576-582.
7. Givens, D. I., Everington, J. M., & Adamson, A. H. (1989). The digestibility and metabolisable energy content of grass silage and their prediction from laboratory measurements. *Animal Feed Science and Technology*, 24, 27-43. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(89\)90018-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(89)90018-7)
8. Gunun, N., Wanapat, M., Gunun, P., Cherdthong, A., Khejornsart, P., & Kang, S. (2016). Effect of treating sugarcane bagasse with urea and calcium hydroxide on feed intake, digestibility, and rumen fermentation in beef cattle. *Tropical Animal Health and Production*, 48, 1123-1128. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-016-1061-2>.
9. Fievez, V., Babayemi, O. J., & Demeyer, D. (2005). Estimation of direct and indirect gas production in syringes: A tool to estimate short chain fatty acid production that requires minimal laboratory facilities. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 197-210. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeeds.2005.05.001>.
10. Herrera-Saldana, R. D., Church, C., & Kellems, R. O. (1982). The effect of ammoniation treatment on intake and nutritive value of wheat straw. *Animal Feed Science Technology*, 54, 1-6. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(79\)90010-5](https://doi.org/10.1016/0377-8401(79)90010-5)
11. Herrera-Saldana, R., Church, D. C., & Kellems, R. O. (1983). Effect of ammoniation treatment of wheat straw on *in vitro* and *in vivo* digestibility. *Journal of Animal Science*, 56(4), 938-942.
12. Liu, J. X., Orskov, E. R., & Chen, X. B. (1999). Optimization of steam treatment as a method for upgrading rice straw as feeds. *Animal feed science and technology*, 76(3-4), 345-357. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00196-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00196-5)
13. Madadi, M., Nazar, M., Shah, S. W. A., Li, N., Imtiaz, M., Zhong, Z., & Zhu, D. (2023). Green alkaline fractionation of sugarcane bagasse at cold temperature improves digestibility and delignification without the washing processes and release of hazardous waste. *Industrial Crops and Products*, 200, 116815. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116815>.
14. Malekshahi, M., Danesh Mesgaran, M., & Tahmasbi, A. M. (2012). The effect of chemical treatment with NaOH and urea on chemical composition, *in vitro* gas production and *in situ* dry matter degradability of sesame residues. *Livestock Research for Rural Development*, 24(12), 1-4.
15. Manyuchi, B., Ørskov, E. R., & Kay, R. N. B. (1992). Effects of feeding small amounts of ammonia treated straw on degradation rate and intake of untreated straw. *Animal Feed Science and Technology*, 38(4), 293-304. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(92\)90020-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(92)90020-7)
16. Menke, K. H., & Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28, 7-55.
17. Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222.
18. National Research Council (NRC). (2007). Nutrient Requirements of Small Ruminants. 7th Revised Edition of the National Academy of Sciences (NAS) publication, 85, 900-908. <https://doi.org/10.17226/11654>.
19. Okano, K., Boonlue, S., & Suzuki, Y. (2005). Effects of ammonium hydroxide treatment on the *in vitro* dry matter digestibility and gas production of wheat straw, sugarcane bagasse medium and konara oak rotted by edible basidiomycetes. *Animal Science Journal*, 76(2), 147-152. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1740-0929.2005.00250.x>.
20. Owens, F. N., & Basalan, M. (2016). Ruminant fermentation. *Rumenology*, 63-102. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30533-2_3.

21. Playne, M. J. (1984). Increased digestibility of bagasses by pretreatment with alkalis and steam explosion. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(5), 426-433. <https://doi.org/10.1002/bit.260260505>
22. Ribeiro, G. O., Gruninger, R. J., Jones, D. R., Beauchemin, K. A., Yang, W. Z., Wang, Y., & McAllister, T. A. (2020). Effect of ammonia fiber expansion-treated wheat straw and a recombinant fibrolytic enzyme on rumen microbiota and fermentation parameters, total tract digestibility, and performance of lambs. *Journal of Animal Science*, 98(5), skaa116. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa116>.
23. Sahnoune, S., Besle, J. M., Chenost, M., Jouany, J. P., & Combes, D. (1991). Treatment of straw with urea. 1. Ureolysis in a low water medium. *Animal Feed Science and Technology*, 34(1-2), 75-93. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90193-7](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90193-7)
24. Sallam, S. M. A., Nasser, M. E. A., & El-Waziry, A. M. (2007). Use of an *in vitro* rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. *Journal of Applied Science Research*, 3, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.04.034>
25. Shahbazi, H., Sadeghi, A., Fazaeli, H., Reis Ali, G., & Chamani, M. (2009). Effects of Electron-Beam irradiation on the dry matter, neutral and acid detergent fiber degradation parameters of sugarcane bagasse. *Journal of Water and Soil Science*, 13(47), 485-493.
26. Singh, M., & Jackson, M. G. (1971). The effect of different levels of sodium hydroxide spray treatment of wheat straw on consumption and digestibility by cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 77(1), 5-10. <https://doi.org/10.1017/S0021859600023388>
27. Shahbazi, H. R., Sadeghi, A. A., Fazeli, H., Raeesali, G. R., & Chamani, M. (2009). Effect of beam electron irradiation on degradability parameters of dry matter, neutral detergent fiber and acid detergent fiber of sugarcane bagasse. *Agricultural and Natural Resources Science and Technology*, 47, 485-493.
28. Van Kuijk, S. J. A., Sonnenberg, A. S. M., Baars, J. J. P., Hendriks, W. H., & Cone, J. W. (2016). The effect of adding urea, manganese and linoleic acid to wheat straw and wood chips on lignin degradation by fungi and subsequent *in vitro* rumen degradation. *Animal Feed Science and Technology*, 213, 22-28. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.12.007>
29. Van Soest P.J. (1994). *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA, 476.
30. Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & 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.
31. Wang, R., Wang, M., Ungerfeld, E. M., Zhang, X. M., Long, D. L., Mao, H. X., Deng, J. P., Bannink, A., & Tan, Z. L. (2018). Nitrate improves ammonia incorporation into rumen microbial protein in lactating dairy cows fed a low-protein diet. *Journal of Dairy Science*. 101(11), 9789-9799. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14904>.