

## تعیین ترکیب شیمیایی، خصوصیات فیزیکی و ارزش غذایی پوست سبز گردوی فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا با روش های کیسه‌های نایلونی و تولید گاز

معصومه تکلوزاده<sup>۱</sup> - امید دیانی<sup>۲</sup> - رضا طهماسبی<sup>۳\*</sup> - امین خضری<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۲۵

### چکیده

در این تحقیق ترکیب شیمیایی، حجم گاز تولیدی، تجزیه‌پذیری مؤثر و شاخص ارزش غذایی ماده خشک و پروتئین خام پوست سبز گردوی فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا مورد مطالعه قرار گرفت. برای تعیین تجزیه‌پذیری پوست سبز گردو از سه رأس گوسفند نر بالغ کرمانی دارای فیستولا استفاده شد. داده‌های جمع آوری شده در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز آماری شدند. با فرآوری پوست سبز گردو با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا ظرفیت نگهداری آب و مقدار کل ترکیبات تاننی و فنولی به ترتیب به میزان ۹۰ و ۸۱ درصد به طور معنی‌داری کاهش یافت، در حالی که میزان خاکستر نامحلول افزایش پیدا کرد. فرآوری هیچ تأثیری بر مؤلفه‌های تجزیه‌پذیری و شاخص ارزش غذایی ماده خشک و پروتئین خام نداشت. حجم گاز تولیدی در زمان‌های آنکوباسیون ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پوست گردوی فرآوری نشده در مقایسه با پوست گردوی فرآوری شده با قارچ به طور معنی‌داری بیشتر بود. به طور کلی فرآوری پوست سبز گردو با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا تأثیر معنی‌داری بر ارزش غذایی این محصول فرعی نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** پوست سبز گردو، نوروسپورا سیتوفیلا، تولید گاز، قابلیت هضم، تجزیه‌پذیری.

### مقدمه

داد. در سال ۱۳۸۷، سطح زیر کشت گردو در ایران در حدود ۲,۱۳۶,۶۹۷ هکتار و میزان تولید آن ۳۷۹,۱۷۱ تن بوده است (۵). از یک کیلوگرم گردو حدود ۳۱۱ گرم پوست سبز به دست می‌آید. پوست سبز گردو شامل ۱۳ ترکیب فنولی هیدروکسی سینامیک اسیدها (اسید کلروژنیک، اسید کافئیک، اسید فرولیک و اسید سیناپیک)، هیدروکسی بنزوئیک اسیدها (اسید گالیک، اسید آلژیک، اسید پروتوکاتیک، اسید سیرینژیک و اسید وانیلیک)، فلاونوئیدها (کاتکین، اپی کاتکین، میرستین) و ژوگلون می‌باشد. در بین این ترکیب‌ها ژوگلون بیشترین میزان را دارد و ترکیب اصلی موجود در پوست سبز گردو است (۲۹). یکی از روش‌های بیولوژیکی برای عمل‌آوری فرآورده‌های فرعی کشاورزی استفاده از قارچ می‌باشد که با کشت مختلف میکروارگانیسم‌ها بر روی فرآورده‌های فرعی کشاورزی باعث بهبود پروتئین خام می‌شوند (۱۰). میکروارگانیسم‌های تولید کننده پروتئین تک یاخته‌ای با رشد بر روی این فرآورده‌ها، از مقادیر قابل توجهی الیاف گوارش‌پذیر موجود در ساختمان آن‌ها استفاده کرده و آن را به پروتئین در ساختمان خود تبدیل می‌کنند و بدین وسیله فرآورده فرعی با روش زیستی غنی می‌شود (۲۵، ۳۱). قارچ نوروسپورا سیتوفیلا (*Neurospora Sitophila*) جزء دسته آسکومیست‌ها می

تأمین مواد خوراکی دام‌ها نزدیک به ۶۵ تا ۷۰ درصد کل هزینه‌ها را شامل می‌شود. سالانه حجم عظیمی از بقایای کشاورزی در چرخه تولید محصولات اصلی حاصل می‌شود که می‌توان با استفاده از آن‌ها در تغذیه دام به طور غیر مستقیم به تولید غذا برای انسان و کاهش قیمت جیره دام‌ها کمک نمود. استفاده مؤثر از فرآورده‌های فرعی صنایع به عنوان خوراک دام به برخی از عوامل از جمله ترکیب مواد مغذی موجود در این فرآورده‌ها در مقایسه با نیازهای دام بستگی دارد (۲۱). عامل مهم دیگر مقرون به صرفه بودن فرآوری این فرآورده‌ها جهت استفاده از آن به عنوان خوراک دام است (۱۹). پوست سبز گردو ارزش اقتصادی پائینی دارد و دور ریختن آن باعث آلودگی محیط زیست می‌گردد، لذا با عمل‌آوری آن به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌توان ارزش غذایی آن را به منظور تغذیه دام افزایش

<sup>۱</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه شهید باهنر کرمان،

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان،

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان.

(Email: rtahmasb@uk.ac.ir

\*) نویسنده مسئول:

دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱۵ پی اس آی به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید.

برای تهیه نمونه ابتدا pH پوست گردوی آسیاب شده تعیین گردید. به این منظور ۴۰ گرم از نمونه آسیاب شده درون یک ارلن ریخته شد و سپس ۴۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید و با استفاده از pH متر، pH آن تعیین شد (۴، ۹، ۱۲). بهترین رطوبت برای رشد این قارچ ۷۵ درصد است. لذا، با دانستن درصد ماده خشک پوست گردو (۹۳ درصد) و افزودن مقدار ۲۷۶ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰۰ گرم از پوست گردوی مذکور حد بهینه رطوبت مورد نیاز حاصل گردید. مقدار مایع تلقیحی استفاده شده ۱ میلی لیتر به ازاء هر ۱۰ گرم پوست گردوی خشک بود. در چهار ارلن ۲۵۰ میلی لیتری در هر کدام ۲۰ گرم از پوست گردوی الک شده با الک ۲ میلی متر و در دو ارلن ۲۵۰ میلی لیتری، در هر کدام ۲۰ گرم از پوست گردوی الک شده با الک ۱ میلی متر ریخته شد و سپس مقدار لازم از مخلوط آب و آمونیاک که ۵۳/۲ میلی لیتر برای هر کدام از ارلن ها بود به آنها اضافه شد. برای مشاهده اثر حجم نمونه در ارلن بر افزایش درصد پروتئین، در یک ارلن هم مقدار ۴۰ گرم نمونه الک شده با الک ۰/۵ میلی متر و در دو ارلن هم در هر کدام مقدار ۱۰ گرم نمونه آسیاب شده، در یکی الک شده با الک ۱ میلی متر و در دیگری الک شده با الک ۲ میلی متر ریخته شد و مقادیر مناسب آب و آمونیاک برای رسیدن رطوبت به ۷۵ درصد و pH به ۵/۵، یعنی pH مناسب جهت رشد قارچ، اضافه گردید (۱۰). پس از استریل شدن ارلن ها و محتویات آنها مقدار ۱ میلی لیتر از محیط کشت قارچ در زیر هود و در شرایط استریل تلقیح شد. سپس، ارلن ها به دستگاه انکوباتور منتقل شده و به مدت ۱۲۰ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۱۲۰ ساعت ارلن ها از انکوباتور خارج شده و نمونه های داخل ارلن ها به داخل تعدادی پتری دیش منتقل شدند. این نمونه ها در داخل آون در دمای ۵۰-۴۵ درجه سانتی گراد قرار دادند تا کاملاً خشک شوند. پس از خشک شدن کامل، نمونه ها با هم مخلوط و آسیاب شدند و میزان پروتئین خام آنها تعیین گردید (۲۸).

### تعیین ترکیب شیمیایی و خصوصیات فیزیکی

ترکیب شیمیایی پوست سبز گردوی فراوری شده و فراوری نشده از جمله مقادیر ماده خشک، ماده آلی، خاکستر خام، پروتئین خام و چربی خام بر اساس روش های استاندارد AOAC (۱۳)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی به روش ون سوست (۳۰) و مقدار ترکیبات تاننی و فنولی به روش ماکار (۲۰) اندازه گیری شدند.

برای تعیین خصوصیات فیزیکی از جمله تعیین دانسیته توده ای (جرم حجمی توده ای)، ظرفیت نگهداری آب، ماده خشک محلول و خاکستر محلول از روش گیگر-روردین استفاده شد (۱۷).

باشد، به عنوان قارچ های عالی شناخته می شوند که در شرایط محیطی وسیعی قادر به زندگی بوده و ترکیباتی از قبیل گلوکز، سلولز و کراتین را تجزیه می کنند. این قارچ از سلولز موجود در پوست سبز گردو به عنوان کربن و از آمونیاک به عنوان منبع نیتروژن استفاده کرده و تولید پروتئین می نماید. مزیت استفاده از قارچ نورو سپورا سیتوفیلا در فرآوری ضایعات کشاورزی آن است که در تخمیر حالت کشت جامد، دوره رشد این قارچ از دوره رشد قارچ های دیگر و باکتری ها کوتاه تر است (۲۴). در این تحقیق برای عمل آوری پوست سبز گردو از روش تخمیر حالت کشت جامد استفاده شده است. در تمامی تحقیقات انجام شده افزایش در غلظت پروتئین خام (۲، ۴، ۶، ۹، ۱۱، ۱۲) و کاهش در الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی فرآورده های فرعی کشاورزی عمل آوری شده با قارچ نورو سپورا سیتوفیلا گزارش شده است (۲، ۳، ۱۱).

هدف از اجرای این آزمایش تعیین ترکیب شیمیایی، خصوصیات فیزیکی، تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام و حجم گاز تولیدی به روش آزمایشگاهی پوست سبز گردوی فراوری شده با قارچ نورو سپورا سیتوفیلا بود.

## مواد و روش ها

### آماده سازی نمونه ها و تلقیح قارچ

پوست سبز گردوی رقم کاغذی، از شهرستان بافت استان کرمان جمع آوری گردید. مقداری از پوست سبز گردوی خشک شده در برابر آفتاب، در آزمایشگاه آسیاب و با الک های ۱ و ۲ میلی متری الک گردید. سپس ۵ گرم از آن برای تعیین مقدار ماده خشک در داخل آون قرار داده شد. رطوبت آن حدود ۷ درصد بود. قارچ نورو سپورا سیتوفیلا از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران (مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران) تهیه گردید.

جهت تهیه مایع تلقیح از روی کشت اصلی قارچ نورو سپورا سیتوفیلا در شرایط کاملاً استریل به هر کشت آگار دکستروز سیب زمینی (PDA) یک لوپ میسلیموم قارچ تلقیح شد و در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد. پس از آن کشت های تهیه شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون یخچال قرار داده شدند. ترکیب محیط کشت به شرح زیر بود (۳): گلوکز ۱۰ گرم، عصاره مخمر (محیط کشت) ۲ گرم، فسفات هیدروژن پتاسیم ۰/۷۱۴ گرم، اوره ۰/۸۶ گرم، سولفات آمونیوم ۰/۴۷ گرم، سولفات منگنز ۰/۲ گرم، کلرید کلسیم ۰/۲ گرم، سولفات روی ۴/۴ میلی گرم، اسید بوریک ۰/۱۴۴ میلی گرم، مولیبیدات آمونیوم ۰/۴۸ میلی گرم، سولفات مس ۰/۷۸ میلی گرم، کلرید منگنز ۰/۱۴۴ میلی گرم، کلرید آهن ۳/۲ میلی گرم. برای تهیه کشت نگهدارنده، ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت با ترکیب فوق تهیه و در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته شد. ارلن در

## تعیین تجزیه پذیری با روش کیسه‌های نایلونی

برای آزمایش *In situ* از روش پیشنهادی ارسکوف و مکدونالد (۲۶) با استفاده از مدل تجزیه پذیری ارائه شده توسط این محققین به صورت  $p=a+b(1-e^{-ct})$  استفاده شد. برای تعیین تجزیه‌پذیری نمونه‌ها از ۳ راس گوسفند نر بالغ دارای فیستولا استفاده شد، به طوری که نمونه‌های ۲ گرمی در داخل کیسه های پلی استری با ابعاد  $12 \times 18$  سانتی متر و با قطر منافذ ۵۰ میکرونی در زمان‌های صفر، ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در داخل شکمبه انکوباسیون شدند. گوسفندان دو بار در روز با جیره کاملاً مخلوط دارای ۶۰ درصد یونجه خشک و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه می‌شدند. کنسانتره از ۷۳ درصد دانه جو، ۲۵ درصد کنجاله سویا، ۰/۶ درصد کربنات کلسیم، ۱ درصد مکمل ویتامین و مواد معدنی و ۰/۴ درصد نمک تشکیل شده بود. جیره تغذیه شده دارای ۲ مگا کالری انرژی متابولیسمی بر کیلوگرم ماده خشک و ۱۲ درصد پروتئین خام بود. سپس میزان ناپدید شدن ماده خشک نمونه‌ها تعیین گردید. برای تعیین تجزیه پذیری مؤثر و مؤلفه‌های تجزیه پذیری از نرم افزار Neway (۱۵) استفاده شد.

## حجم گاز تولیدی به روش آزمایشگاهی

به منظور تعیین میزان گاز تولیدی از سرنگ های شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتری و بر اساس روش منک و استینگاس (۲۲) استفاده شد. مایع شکمبه پیش از خوراک صبحگاهی از سه رأس گوسفند نر کرمانی (به وزن  $50 \pm 1/5$  کیلوگرم) دارای فیستولای شکمبه‌ای گرفته شد. گوسفندان دو بار در روز با جیره کاملاً مخلوط دارای ۶۰ درصد یونجه خشک و ۴۰ درصد کنسانتره تغذیه می‌شدند. مایع شکمبه با چهار لایه صاف شد و سپس به نسبت ۱ با ۲ حجم محلول بزاق در حضور دی اکسید کربن مخلوط و ۳۰ میلی لیتر از این محلول به داخل سرنگ های کالیبره حاوی ۲۰۰ میلی گرم نمونه کشیده و در حمام بن ماری دارای دمای  $38/5$  درجه سانتی گراد قرار داده شد. حجم ابتدایی مایع کشیده شده به داخل سرنگ ثبت گردید و سپس میزان گاز تولید شده در زمان‌های ۳، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون ثبت شد. انرژی متابولیسمی و قابلیت هضم ماده آلی به روش آزمایشگاهی پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ با استفاده از رابطه ی منک و همکاران (۲۳) محاسبه شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

اختلاف بین میانگین تیمارها، پیش و پس از فرآوری، با استفاده از آزمون توکی مقایسه شد. مدل آماری مورد استفاده  $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$  بود. در این معادله  $Y_{ij}$  مقدار عددی هر مشاهده،  $\mu$  میانگین صفت اندازه گیری شده،  $T_i$  اثر تیمار و  $e_{ij}$  اثرات باقیمانده بود. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار آماری SAS (۲۷) انجام شد.

## نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ در جدول ۱ آورده شده است. تجزیه آماری داده‌های مربوط به ترکیب شیمیایی هر دو نوع پوست سبز گردو نشان داد که ماده خشک، پروتئین خام، ماده آلی، خاکستر خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و چربی خام نمونه‌ها از نظر آماری متفاوت نبود. در واقع ترکیب شیمیایی پوست سبز گردو تحت تاثیر فرآوری با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* قرار نگرفت. دشتی ساریدرق و همکاران (۲) گزارش کردند که میزان پروتئین خام تفاله چغندر قند پس از عمل آوری با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* افزایش و مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی کاهش یافت. آن‌ها بیان کردند که عمل آوری تفاله چغندر قند هیچ گونه تاثیر معنی داری بر ماده خشک و خاکستر آن نداشت. در آزمایشی دیگر فرآوری تفاله مرکبات با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* میزان خاکستر و پروتئین خام را افزایش، و میزان ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را به طور معنی داری کاهش داد (۱۱). قارچ با مصرف کردن مواد سهل‌الهضم و لیگنوسولزی موجود در تفاله توسط آنزیم‌های خارج سلولی، تولید انرژی، پروتئین و دی‌اکسید کربن می‌نماید (۲۸). قیاسی (۹) طی آزمایشی نشان داد که مقدار ماده خشک و ماده آلی تفاله انگور با فرآوری با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* تغییر نکرد اما مقدار پروتئین خام و خاکستر خام به طور معنی داری افزایش یافت. در تحقیق دیانی و همکاران (۳) فرآوری سرشاخه خرما با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* موجب کاهش ماده خشک سرشاخه گردید. کاهش درصد ماده خشک ممکن است به دلیل استفاده قارچ از آن به عنوان خوراک و خروج مقداری کربن از طریق تنفس باشد (۱۸). قارچ در زمان رشد بر سطح سوبسترا، انواع آنزیم‌های خارج سلولی ترشح کرده که سبب شکسته شدن پیوندهای هیدروکربنی می‌گردد، بنابراین با شکسته شدن پیوندهای فوق و تولید انرژی، قارچ‌ها رشد نموده و توده سلولی قارچ رشد یافته و گاز دی‌اکسید کربن متصاعد می‌شود. به این ترتیب این پدیده باعث می‌شود که از وزن ماده خشک اولیه کاسته شود (۲۸).

با فرآوری پوست گردو با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* میزان کل ترکیبات تاننی و فنولی به ترتیب به میزان ۹۰ و ۸۱ درصد به طور معنی داری کاهش ( $P < 0/05$ ) یافت. با استفاده از این قارچ می‌توان ترکیبات فنلی و تاننی را کاهش داد که به عنوان مواد ضد تغذیه ای این محصول فرعی مطرح می‌باشد. وهاب زاده (۱۲) گزارش کرد که مقدار کل ترکیبات فنلی و تاننی قابل استخراج از پوست رویی پسته پس از عمل آوری با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* به طور معنی داری کاهش یافت که دلیل آن شکسته شدن کمپلکس تشکیل شده این ترکیبات فنلی و تاننی با پروتئین و ترکیبات دیواره سلولی توسط آنزیم‌های خارج سلولی قارچ می‌باشد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی پوست سبز گردوی فرآوری نشده و پوست گردوی فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا (درصد در ماده خشک)

ترکیب شیمیایی	پوست سبز گردو		SEM	سطح معنی داری
	فرآوری نشده	فرآوری شده		
ماده خشک	۹۲/۹۵	۹۸/۰۴	۱/۵۹	NS
ماده آلی	۹۴/۵۵	۹۴/۲۱	۰/۴۸	NS
خاکستر	۵/۴۵	۵/۷۹	۰/۴۸	NS
چربی خام	۷/۱۰	۵/۵۷	۱/۲۱	NS
پروتئین خام	۵/۷۸	۶/۱۹	۰/۴۱	NS
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۷/۴۴	۳۷/۹۵	۰/۲۶	NS
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۲۹/۲۲	۲۸/۷۳	۰/۳۱	NS
کل ترکیبات تاننی	۳/۴۳	۰/۳۵	۰/۱۵	۰/۰۰۵
کل ترکیبات فنولی	۵/۹۷	۱/۱۱	۰/۱۷	۰/۰۰۲

است. تجزیه پذیری ماده خشک بین پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده در ساعت‌های مختلف آنکوباسیون متفاوت نبود به جز در ساعت ۴۸ که تجزیه پذیری ماده خشک پوست سبز گردوی فرآوری نشده به طور معنی داری بیشتر از نوع فرآوری شده بود ( $P < 0.05$ ). با فرآوری پوست سبز گردو توسط قارچ نوروسپورا سیتوفیلا اگرچه میزان ترکیبات تاننی و فنولی آن کم شده است اما احتمالاً به علت تغییر نکردن سایر ترکیبات شیمیایی به ویژه پروتئین، NDF و ADF، تجزیه پذیری بیشتر مولفه‌های آن تحت تأثیر قرار نگرفته است، از طرف دیگر کاهش برخی مولفه‌های تجزیه پذیری احتمالاً به علت مصرف مواد سهل الهضم توسط قارچ بوده است. قیاسی (۹) گزارش کرد که میزان تجزیه پذیری تفاله انگور تحت تأثیر عمل آوری با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا قرار نگرفت. دشتی ساریدرق و همکاران (۲) نشان دادند که فرآوری تفاله چغندر قند با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا باعث بهبود تجزیه پذیری ماده خشک و پروتئین خام شد. در زمان فرآوری با قارچ، سیستم آنزیمی قارچ سبب شکستن پیوندهای شیمیایی در مواد هیدروکربنی ساختمانی در تفاله چغندر قند می‌شود، لذا باعث کاهش مقدار الیاف در تفاله چغندر قند و افزایش تجزیه پذیری می‌گردد که با نتایج به دست آمده در این تحقیق توافق نداشت. بخش کند تجزیه (b) پوست گردو پس از فرآوری تغییر نکرد. در تحقیق زابلی و همکاران (۶) مولفه b سبوس گندم پس از فرآوری با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا افزایش یافت که این افزایش در سبوس گندم فرآوری شده احتمالاً به دلیل وجود ترکیبات غیرمحلول و غیر قابل هضم بیشتر در آن است. مولفه c که نشان دهنده سرعت تجزیه پذیری است، در ماده خشک پوست سبز گردوی فرآوری شده نسبت به پوست سبز گردوی فرآوری نشده به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) کاهش یافت.

دیانی و همکاران (۳) گزارش کردند که پس از عمل آوری سرشاخه خرما با قارچ، میزان مواد محلول در آب (a) به طور

خصوصیات فیزیکی پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا در جدول ۲ آورده شده است. ظرفیت نگهداری آب با فرآوری کردن به طور معنی داری کاهش و خاکستر نامحلول افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). دانسیته توده‌ای، جرم حجمی لحظه ای و ماده خشک محلول پوست سبز گردو تحت تأثیر فرآوری قرار نگرفتند. در تحقیق قیاسی (۹) جرم حجمی لحظه ای تفاله انگور فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا تغییر نیافت که دلیل آن کم بودن ظرفیت نگهداری آب به علت بالا بودن لیگنین و عدم توانایی قارچ در استفاده از آن و مصرف ترکیبات داخل سلولی محلول می‌باشد. چاجی و همکاران (۱) افزایش جرم حجمی لحظه‌ای را در پیت نیشکر فرآوری شده با بخار آب گزارش کردند. قیاسی (۹) گزارش کرد ظرفیت نگهداری آب، ماده خشک محلول و دانسیته توده‌ای تفاله انگور با فرآوری با قارچ کاهش و خاکستر محلول به طور معنی داری افزایش یافت. کاهش ظرفیت نگهداری آب احتمالاً به دلیل رابطه معکوس بین ظرفیت نگهداری آب با میزان ترکیبات داخل سلولی مانند کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌های ذخیره‌ای می‌باشد. قارچ در درجه اول از ترکیبات داخل سلولی تفاله به عنوان یک منبع غذایی استفاده می‌کند و پس از آن ترکیبات دیواره سلولی را با آنزیم‌های خارج سلولی تجزیه می‌کند، لذا با کاهش مقدار این ترکیبات، ظرفیت نگهداری آب کاهش می‌یابد (۹). در آزمایش دیگری چاجی و همکاران (۱) نشان دادند که عمل آوری پیت نیشکر با بخار آب تحت فشار باعث افزایش معنی دار دانسیته توده‌ای و ماده خشک محلول و کاهش ظرفیت نگهداری آب گردید.

نتایج تجزیه پذیری، تجزیه پذیری مؤثر، مولفه‌های تجزیه پذیری و شاخص ارزش غذایی (NVI<sup>1</sup>) ماده خشک و پروتئین خام پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده در جداول ۳ و ۴ آورده شده

1 Nutritive value index

است، به طوری که با افزایش سطح مصرف خوراک در دام این مقدار نیز افزایش می‌یابد. همچنین افزایش مقدار  $k$  سبب می‌شود که مدت زمان دسترسی میکروارگانیزم‌های شکمبه به مواد خوراکی نیز کاهش یافته و در نتیجه میزان تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک در مواد خوراکی کاهش یابد (۲۴). تجزیه‌پذیری مؤثر ماده خشک و پروتئین خام پوست سبز گردوی فرآوری شده و فرآوری نشده با افزایش نرخ عبور مواد از شکمبه کاهش یافت که با نتایج دشتی ساریدرق و همکاران (۲) و ناظم و همکاران (۱۱) مطابقت دارد.

معنی‌داری افزایش یافت، احتمالاً قارچ با استفاده از آنزیم‌های خود، دیواره سلولی نامحلول در آب را تجزیه کرده و با تبدیل آن به ترکیبات ساده‌تر و محلول سبب افزایش این بخش شده است. همچنین بخش  $b$  ماده خشک سرشاخه خرما که معرف بخش با تجزیه‌پذیری کند می‌باشد روندی مخالف با بخش  $a$  داشت و پس از عمل‌آوری کاهش یافت که می‌تواند به خاطر استفاده قارچ از بخش دیواره سلولی سرشاخه باشد که تجزیه‌پذیری کندتری دارد. نرخ عبور مواد از شکمبه ( $k$ ) تحت تأثیر مقدار خوراک مصرفی

جدول ۲- خصوصیات فیزیکی پوست سبز گردوی فرآوری نشده و پوست گردوی فرآوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا*

SEM	سطح معنی‌داری	پوست سبز گردو		خصوصیات فیزیکی
		فرآوری نشده	فرآوری شده	
۰/۰۲۷	NS	۳/۵۰	۳/۵۴	دانسیته توده ای ۵۰ (گرم بر میلی لیتر)
۰/۰۱۱	NS	۱/۹۳	۱/۹۹	دانسیته توده ای ۱۰۰ (گرم بر میلی لیتر)
۰/۰۲۱	NS	۱/۱۷	۱/۰۶	جرم حجمی لحظه ای (گرم در میلی لیتر)
۰/۰۰۸۲	۰/۰۴۹	۱/۹۲	۷/۳۳	ظرفیت نگهداری آب (گرم در گرم ماده خشک)
NS	۰/۰۰۳	۰/۴۵	۰/۴۲	ماده خشک محلول (گرم در گرم ماده خشک)
۰/۰۱۰۲	۰/۰۰۱	۴۴/۲۰	۳۴/۸۵	خاکستر نامحلول (درصد خاکستر)

جدول ۳- فرآیندهای تجزیه‌پذیری و شاخص ارزش غذایی ماده خشک پوست سبز گردوی فرآوری نشده و پوست گردوی فرآوری شده (درصد)

SEM	سطح معنی‌داری	پوست سبز گردو		فرآیندهای تجزیه‌پذیری و شاخص ارزش غذایی
		فرآوری نشده	فرآوری شده	
				میانگین تجزیه‌پذیری
NS	۱/۵۹۴	۲۱/۴۹	۲۱/۹۳	صفر
NS	۰/۸۵۹	۴۰/۵۶	۴۱/۴۹	۳
NS	۰/۵۰۰	۴۳/۳۲	۴۴/۱۱	۶
NS	۳/۴۸	۴۷/۶۷	۵۳/۲۷	۱۲
NS	۳/۱۱۰	۵۴/۷۲	۶۴/۳۱	۲۴
۰/۰۰۲۹	۰/۸۷۶	۶۴/۳۳	۷۵/۹۴	۴۸
NS	۱/۰۲۹	۷۲/۱۷	۷۵/۱۴	۷۲
				مؤلفه‌های تجزیه‌پذیری
NS	۱/۵۹۴	۲۱/۴۸	۲۱/۹۳	a
NS	۵/۷۷۴	۶۹/۱۴	۵۶/۳۷	b
NS	۴/۹۵۶	۹۰/۶۴	۷۸/۳۱	a+b
۰/۰۳۴	۰/۰۰۷	۰/۰۱	۰/۰۵	(h <sup>-1</sup> ) c
				تجزیه‌پذیری مؤثر
NS	۰/۹۸۶	۶۴/۸۳	۶۶/۰۶	k= %۲
NS	۲/۲۷۵	۶۲/۹۶	۵۹/۸۳	k= %۴
NS	۴/۷۸۴	۵۹/۵۶	۵۶/۳۳	k= %۶
NS	۸/۶۱۹	۵۷/۳۶	۵۴/۲۰	k= %۸
NS	۱/۵۹۳	۵۲/۷۷	۵۴/۵۵	شاخص ارزش غذایی (NVI)*

$$*NVI = a + 0.4b + 200c$$

نوروسپورا سیتوفیلا در سرعت‌های عبور مختلف مواد از شکمبه به طور معنی‌داری بیشتر از پوست پسته عمل‌آوری نشده بود. در مجموع فرآوری پوست سبز گردو با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا تاثیر معنی‌داری بر تجزیه‌پذیری آن نداشت که شاید به علت عدم رشد مناسب این قارچ بر روی پوست گردو باشد. در آزمایشی که توسط سلامت و همکاران (۷) انجام گرفت، مشخص شد که عصاره متانولی پوست سبز گردو بر روی چهار گونه قارچ میکروسپورم کانیس، تریکوفایتون متاگروفایتیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم و کاندیدا آلیکنس اثر بازدارندگی داشته و به میزان ۶۰ درصد باعث توقف رشد آن‌ها شده است. همچنین در تحقیق شادزی و همکاران (۸)، تاثیر عصاره هیدروکربنی پوست سبز و برگ گردو بر روی برخی از قارچ‌های ساپروفیت، مخمرها و درماتوفیت‌ها بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره بر روی کلیه درماتوفیت‌ها و قارچ‌های بررسی شده اثر قاطع ضد قارچی دارد اما اثر آن بر قارچ‌های ساپروفیت چشمگیر نیست.

در این تحقیق فرآوری پوست گردو با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا تأثیر معنی‌داری بر تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام نداشت. دشتی ساریدرق و همکاران (۲) گزارش کردند که تجزیه‌پذیری مؤثر پروتئین خام در شکمبه در تفاله چغندر عمل‌آوری شده بیشتر از تفاله خام بود. علت این امر احتمالاً وجود درصد پائین تر NDF و ADF در تفاله چغندر عمل‌آوری شده بود، زیرا همبستگی مثبتی بین هضم دیواره سلولی و هضم نیتروژن در بسیاری از منابع خوراکی وجود دارد که در آن‌ها ترکیبات نیتروژن دار به وسیله ساختمان دیواره سلولی احاطه شده است. عمل‌آوری تفاله مرکبات با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا باعث افزایش ضرایب هضمی ماده خشک و پروتئین خام گردید (۱۱). قارچ با استفاده از آنزیم‌های خود باعث افزایش مواد محلول در آب شده که انرژی بیشتری برای میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند، در نتیجه باعث افزایش تجزیه‌پذیری مواد خوراکی موجود در شکمبه می‌شود. در آزمایشی دیگر، زابلی و همکاران (۶) تاثیر مطلوبی از عمل‌آوری سیوس گندم با این قارچ مشاهده نکردند. وهاب زاده (۱۲) در آزمایشی گزارش کرد که میانگین تجزیه‌پذیری ماده خشک پوست پسته عمل‌آوری شده با قارچ

جدول ۴- فرآیندهای تجزیه پذیری و شاخص ارزش غذایی پروتئین خام پوست سبز گردوی فرآوری نشده و پوست سبز گردوی فرآوری شده (درصد)

سطح معنی‌داری	SEM	پوست سبز گردو		فرآیندهای تجزیه پذیری و شاخص ارزش غذایی
		فرآوری نشده	فرآوری شده	
				میانگین تجزیه‌پذیری
NS	۳/۷۲۸	۱۲/۲۸۶	۱۲/۲۱۰	صفر
NS	۴/۶۵۸	۱۴/۵۸۰	۱۱/۹۹۶	۳
NS	۵/۲۹۸	۲۶/۵۴۲	۳۱/۲۸۳	۶
NS	۴/۴۷۳	۲۹/۹۴۷	۴۲/۴۷۶	۱۲
NS	۴/۹۵۷	۴۲/۵۳۳	۶۱/۹۴۶	۲۴
۰/۰۳۰	۳/۷۴۴	۶۱/۲۲۷	۷۸/۶۱۱	۴۸
NS	۳/۰۷۳	۶۷/۸۶۰	۷۵/۶۷۶	۷۲
NS				مؤلفه‌های تجزیه‌پذیری
NS	۳/۸۲۵	۱۲/۰۱۳	۱۲/۲۱۰	a
NS	۴/۸۹۷	۶۵/۸۲۳	۵۶/۱۳۰	b
NS	۶/۵۶۶	۷۹/۸۴۰	۷۸/۱۲۶	a+b
NS	۰/۱۹۱	-۰/۱۹۲	-۰/۴۸۹	(h <sup>-1</sup> ) c
				تجزیه‌پذیری مؤثر
۰/۰۳۳	۲/۴۰۷	۵۰/۲۰۰	۶۱/۰۳۳	k = %۲
۰/۰۳۲	۲/۴۸۴	۳۶/۸۶۶	۵۰/۲۰۰	k = %۴
۰/۰۴۸	۲/۵۵۲	۳۲/۶۶۶	۴۲/۸۳۳	k = %۶
NS	۲/۶۴۸	۲۷/۷۶۶	۳۷/۴۶۶	k = %۸
NS	۲۹/۶۱۹	۷۷/۵۶۲	۱۵۵/۵۵۸	شاخص ارزش غذایی (NVI)*

\*NVI= a+0.4b+200c

نکرد، که با نتایج وهاب زاده (۱۲) مطابقت نداشت. همچنین رشیدیان (۴) گزارش کرد که قابلیت هضم ماده آلی به روش آزمایشگاهی در ساعت ۷۲ برای سرشاخه خرمای عمل آوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* بیش از سرشاخه خرمای عمل آوری نشده بود که دلیل آن را می توان کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و افزایش مواد محلول از جمله پروتئین خام دانست. میانگین انرژی متابولیسمی تخمین زده شده به روش تولید گاز در ساعت ۷۲، برای پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* تفاوت معنی داری نداشت که با نتایج وهاب زاده (۱۲) مطابقت داشت اما رشیدیان (۴) انرژی متابولیسمی سرشاخه خرمای عمل آوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* را بالاتر از سرشاخه خرمای عمل آوری نشده برآورد کرد.

نتایج مربوط به میانگین حجم گاز تولید شده پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* در زمان های مختلف در جدول ۵ آورده شده است. در این مطالعه، با افزایش زمان انکوباسیون از ۳ به ۷۲ ساعت حجم گاز تولید شده از پوست سبز گردوی فرآوری نشده و فرآوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* افزایش یافت (نمودار ۱)، همچنین در زمان های انکوباسیون ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت، حجم گاز تولیدی با پوست سبز گردوی فرآوری نشده در مقایسه با پوست گردوی فرآوری شده با قارچ بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). رشیدیان (۴) دریافت که با فرآوری سرشاخه خرما با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* حجم گاز تولید شده در ساعت های مختلف به طور معنی داری افزایش یافت. وهاب زاده (۱۲) گزارش کرد که حجم گاز تولیدی در ساعت ۲، ۴ و ۶ برای پوست پسته عمل آوری شده با قارچ به طور معنی داری بیشتر از پوست پسته عمل آوری نشده بود.

میانگین قابلیت هضم ماده آلی به روش آزمایشگاهی در زمان ۷۲ ساعت پوست سبز گردو با فرآوری با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* تغییر

جدول ۵- حجم گاز تولید شده در زمان های مختلف، قابلیت هضم ماده آلی به روش آزمایشگاهی و انرژی متابولیسمی در زمان ۷۲ ساعت برای پوست سبز گردوی فرآوری نشده و پوست گردوی فرآوری شده با قارچ *نوروسپورا سیتوفیلا* (بر اساس ماده خشک)

سطح معنی داری	SEM	پوست سبز گردو		فرآیندهای تولید گاز، قابلیت هضم ماده آلی و انرژی متابولیسمی
		فرآوری نشده	فرآوری شده	
				حجم گاز تولید شده (میلی لیتر)
NS	۱/۱۹۹	۲۵/۴۳	۳۷/۸۶	۳ ساعت
۰/۰۲۹۷	۱/۵۳۶	۳۳/۸۰	۳۹/۵۳	۶ ساعت
۰/۰۱۳۱	۲/۰۴۹	۴۸/۴۴	۵۷/۶۴	۱۲ ساعت
۰/۰۰۳۴	۲/۴۸۴	۶۷/۱۰	۸۱/۵۵	۲۴ ساعت
NS	۳/۲۷۰	۷۹/۰۶	۸۸/۵۷	۴۸ ساعت
NS	۳/۶۴۴	۸۰/۴۸	۸۸/۹۰	۷۲ ساعت
NS	۳/۲۳۹	۸۷/۰۹	۹۴/۴۶	قابلیت هضم ماده آلی به روش آزمایشگاهی <sup>۱</sup> (IVOMD)
NS	۰/۶۵۱	۱۴/۱۸	۱۴/۳۳	انرژی متابولیسمی (مگاژول در کیلوگرم) <sup>۲</sup>
				ضرایب تولید گاز
<۰/۰۰۰۱	۱/۰۲۰	۹/۴۹	۴/۹۵	a
<۰/۰۰۰۱	۲/۵۲۲	۷۱/۷۷	۸۱/۱۰	b
<۰/۰۰۰۱	۰/۰۵۹	۱/۶۲	۲/۱۶	c
<۰/۰۰۰۱	۲/۸۷۳	۸۱/۲۶	۸۶/۰۵	a+b

<sup>۱</sup> IVOMD(g/100 g DM) = (14.88 + 0.889 GP + 0.045 CP + 0.065 CA)

<sup>۲</sup> ME (MJ/kgDM) = 2.20 + 0.136 GP + 0.0057 CP + 0.00029 EE

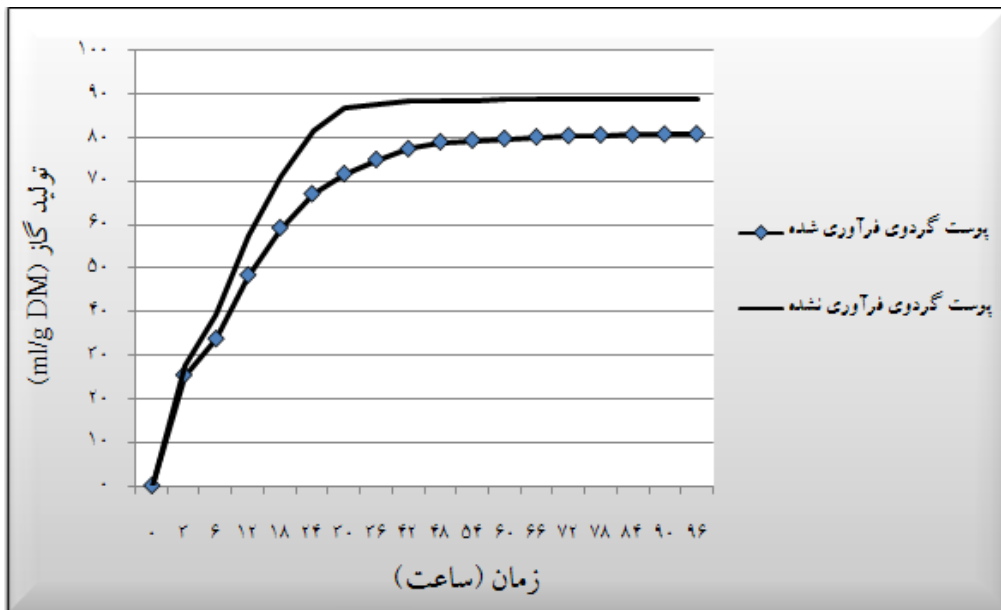
GP= Gas Production, CP= Crude Protein, CA= Crude Ash, EE= Ether Extract

a= تولید گاز از بخش سریع تجزیه (میلی لیتر)،

b= تولید گاز از بخش کند تجزیه (میلی لیتر)،

c= ثابت نرخ تجزیه (درصد در ساعت)،

a+b= تولید بالقوه گاز (میلی لیتر).



نمودار ۱- حجم گاز تولید شده از پوست گردوی فرآوری نشده و پوست گردوی فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا پس از زمان های مختلف انکوباسیون

۵۸/۶۶، ۰/۰۴۶ و ۷/۸۱ MJ/kg گزارش شده است.

### نتیجه گیری

در آزمایش حاضر با توجه به عدم تغییر ترکیب شیمیایی، تجزیه پذیری و تولید گاز پوست سبز گردو در نتیجه فرآوری با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا می توان نتیجه گرفت که قارچ نوروسپورا سیتوفیلا رشد مناسبی بر روی این ماده غذایی نداشته است، در نتیجه توصیه می شود دیگر روش های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی فرآوری روی این محصول فرعی کشاورزی مورد بررسی قرار گیرد.

کاهش برخی از مولفه های تولید گاز پوست سبز گردوی فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا احتمالاً به علت استفاده قارچ از کربوهیدرات های سهل الهضم پوست سبز گردو و در نتیجه کاهش تولید گاز بوده است زیرا تولید گاز در شکمبه به طور دقیق تخمیر ماده خوراکی را نشان می دهد (۱۴).

همچنین فرآوری کردن باعث افزایش مولفه a و کاهش مولفه های b، c و a+b تولید گاز گردید که کاهش در مولفه c با نتایج به دست آمده از روش *in situ* ماده خشک مطابقت داشت، اما سایر مولفه ها در این روش تغییر معنی داری نشان ندادند. در تحقیق دلاور و همکاران (۱۶) مولف b، c و ME پوست سبز گردو به ترتیب

### منابع

- ۱- چاجی، م، ع. ع. ناصریان، ر. ولی زاده، و ف. افتخاری شاهرودی. ۱۳۸۷. مطالعه خصوصیات فیزیکی پیت نیشکر عمل آوری شده با بخار آب تحت فشار و اهمیت آن ها در تغذیه نشخوارکنندگان. سومین کنگره علوم دامی ایران.
- ۲- دشتی ساریدرق، م، ی. روزبهان، و س. ع. شجاع الساداتی. ۱۳۸۸. اثر قارچ نوروسپورا سیتوفیلا بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم و تجزیه پذیری تفاله چغندر قند. مجله علوم دامی ایران. دوره ۴۰، شماره ۴. ۱۲-۱.
- ۳- دینانی، ا. ع. رشیدیان، و ر. طهماسبی. ۱۳۹۲. اثر قارچ نوروسپورا سیتوفیلا بر ترکیبات شیمیایی، خصوصیات فیزیکی و تجزیه پذیری سرشاخه خرما. نشریه پژوهش های علوم دامی، جلد ۲۳، شماره ۲. ۱۹۱-۱۸۱.
- ۴- رشیدیان، ع. ۱۳۹۰. تعیین میزان قابلیت هضم و تجزیه پذیری سرشاخه ی خرما ی عمل آوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا با استفاده از روش های *in situ* و *in vitro*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- ۵- روح الامینی، ا. و ر. غریب زاده. ۱۳۸۹. سیمای کشاورزی شهرستان های استان کرمان. سال ۱۳۸۸.
- ۶- زابلی، خ، ی. روزبهان، و س. ع. شجاع الساداتی. ۱۳۸۶. بررسی تغییر ترکیبات شیمیایی و قابلیت هضم سبوس گندم پس از عمل آوری بیولوژیکی با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا. مجموعه مقالات دومین کنگره علوم دامی و آبزیان. ص ۴۵۹-۴۶۲.



- ۷- سلامت، ف. س. کیوانی، م. امامی، غ. امین، و پ. عدیمی. ۱۳۸۵. بررسی اثر پوست سبز گردو در جلوگیری از رشد قارچ‌های میکروسپوروم کانیس، ترایکوفایتون متناگروفایتیس، اپیدرموفایتون فلوکوزوم، اسپریلوس نایجر و کاندیدا آلیکنس به روش Broth Dilution. مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۶:۴. ص ۲۰۱-۲۰۵.
- ۸- شادزی، ش. ۱۳۷۰. اثرات ضد قارچی گردو. مجله دانشگاه علوم پزشکی اصفهان. ص ۱۲۱-۱۲۵.
- ۹- قیاسی، ا. ۱۳۸۹. تعیین میزان قابلیت هضم و تجزیه پذیری تفاله انگور عمل آوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا با استفاده از روش های *in vitro* و *in situ*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید باهنر کرمان.
- ۱۰- مددی نوعی، ا. ۱۳۷۶. غنی سازی تفاله چغندر قند به روش تخمیر حالت جامد. پایان نامه کارشناسی ارشد. گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه تربیت مدرس.
- ۱۱- ناظم، ک. ی. روزبهان، و س. ع. شجاع الساداتی. ۱۳۸۷. تعیین ارزش غذایی تفاله مرکبات فرآوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۴۳. ص ۵۰۵-۴۹۵.
- ۱۲- وهاب زاده، م. ۱۳۹۰. تعیین میزان قابلیت هضم و تجزیه پذیری پوست پسته عمل آوری شده با قارچ نوروسپورا سیتوفیلا با استفاده از روش های *in vitro* و *in situ*. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی ساوه.
- 13- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th. Editions Association of official analytical chemists. Arlington. U.S.A.
- 14- Blummel, M., and E. R. Ørskov. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. Anim Feed Sci Technol. 40: 109-119.
- 15- Chen, X. B. 1997. Neway excel, a utility for processing data of feed degradability and in vitro gas production'. ((Rowett Research Institute): Aberdeen, U.K.
- 16- Delavar, M. H., A. M. Tahmasbi, M. Danesh-Mesgaran, and R. Valizadeh. 2013. In vitro Rumen Fermentation and Gas Production: Influence of Different by-product Feedstuffs. Annual Research and Review in Biology. 4(7): 1121-1128.
- 17- Giger-Reverdin, S. 2000. Characterization of feedstuffs for ruminants using some physical parameters. Anim Feed Sci Technol. 86:53-69.
- 18- Lena, G., and G. B. Quaglia. 1992. Sacharification and protein enrichment of sugar beet pulp by *Pleurotus florida*. Biotechnol Technol. 6: 571-574.
- 19- Lonsane, B. K., N. P. Ghildyal, S. Budiatman, and S. V. Ramakrishna. 1985. Engineering aspects of solid state fermentation. Enzyme Microbiology Technology. 7: 258-265.
- 20- Makkar, H. P. S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animal adaptation to tannins and strategies to overcome detrimental effect of feeding tannin-rich feed. A review. Small Rum Res. 49: 241-256.
- 21- McDonald, P., R. A. Edwards, J. F. D. Greenhalgh, and C. A. Morgan, 1995. Animal nutrition (6th ed.). USA: Longman Scientific and Technical.
- 22- Menke, K. H., and H. Staingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim Res Develop. 28:7-55.
- 23- Menke, K. H., L. Raab, A. Salewski, H. Steingass, D. Fritz, and W. Schneider. 1979. The Estimation of Digestibility and Metabolisable Energy content of Ruminant Feedstuffs from the Gas Production when they incubated with Rumen Liquor in vitro. J Agric Sci. 92: 217.
- 24- Moo-Young, M., Y. Chisti, and D. Vlach. 1993. Fermentation of cellulosic materials to mycoprotein foods. Biotechnol Adv. 11: 469-479.
- 25- Nigam, P. 1994. Processing of sugar beet pulp in simultaneous sacharification and fermentation for the production of a protein enrichment product. Process Biochemistry. 29: 331-336.
- 26- Orskov, E. R., and P. McDonald. 1979. The estimation of protein digestibility in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. J Agric Sci. 92: 499-503.
- 27- SAS Institute, Inc. 2005. SAS Procedure Guide. Version 8. SAS Institute, Inc., Cary, NC, 1643 pp.
- 28- Shojaosadati, S. A., R. Faraidouni, A. Madadi-Nouei, and I. Mohamadpour. 1999. Protein enrichment of lignocellulosic substrates by solid state fermentation using *Neurospora Sitophila*. Resourc Conserv and Recycl. 27: 73-87.
- 29- Stampar, F., A. Solar, M. Hudina, R. Veberic, and M. Colaric. 2006. Traditional walnut liqueur-cocktail of phenolics. Food Chemistry. 95(4): 627-631.
- 30- Van Soest, P. J. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>nd</sup> ed. United States of American.
- 31- Xue, M., D. Liu, H. Zhang, H. Qi, and Z. Lei. 1992. A new pilot process of solid state fermentation from

sugar beet pulp for the production of microbial protein. Journal of Fermentation Bioengineering.73: 203-205.