

تاثیر عمل آوری تفاله پرتقال با مخمر ساکارومایسز سرویسیا بر ترکیب شیمیایی و قابلیت هضم آن

امید دینانی^۱، پوریا دادور^۲، رضا طهماسبی^۳ و ملیحه مروت^۲

۱- هسته پژوهشی تغذیه دام و طیور و استادیار بخش مهندسی علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان

odayani@mail.uk.ac.ir

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه شهید باهنر کرمان

۳- استادیار بخش مهندسی علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان

چکیده

استفاده از باقیمانده های زراعی و باقیمانده های کارخانجات مواد غذایی در تغذیه دام به قدمت استفاده انسان از حیوانات می باشد. از آنجایی که ضایعات مرکبات از ارزش اقتصادی پایینی برخوردار بوده و دور ریختن آن باعث آلودگی محیط زیست می شود لذا می توان از آنها در تغذیه دام استفاده نمود. در این آزمایش از ضایعات میوه پرتقال استفاده گردید و از مخمر ساکارومایسز سرویسیا به منظور عمل آوری و افزایش غلظت مواد مغذی آنها استفاده شد. نتایج نشان داد که عمل آوری تفاله پرتقال با مخمر باعث افزایش معنی داری در محتوای پروتئین خام، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز تفاله پرتقال گردید ($P < 0.01$)، ولی درصد ماده آلی و عصاره اتری آن کاهش یافت ($P < 0.01$). نتایج حاصل از تجزیه پذیری آزمایشگاهی نشان داد که در طی عمل آوری تفاله پرتقال، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و همچنین ماده آلی قابل هضم در ماده خشک تغییر معنی داری نداشت. علاوه بر این انرژی قابل متابولیسم نیز تغییر معنی داری نداشت. می توان نتیجه گرفت که عمل آوری تفاله پرتقال با مخمر باعث افزایش بهره وری این محصول می شود.

کلمات کلیدی: تفاله لیمو، محیط زیست، ساکارومایسز سرویسیا، تجزیه پذیری، انرژی قابل متابولیسم

۱- مقدمه

استفاده از باقیمانده های زراعی و باقیمانده های کارخانجات مواد غذایی در تغذیه دام به قدمت استفاده انسان از حیوانات می باشد. استفاده حیوانات از این باقیمانده ها سبب حذف استفاده آنها از دانه غلاتی می شود که قابل استفاده در انسان هستند. در سالهای ۲۰۰۳ - ۲۰۰۰ تولید جهانی مرکبات ۶۹/۴ میلیون تن در هر سال بوده است. ۲۴ درصد از کل مرکبات در دنیا در کشور های مدیترانه ای اسپانیا، ایتالیا، مصر، یونان، ترکیه و مراکش تولید می شود. همچنین برزیل ۲۴ و امریکا ۲۱ درصد از کل مرکبات را تولید می کنند. جنس مرکبات شامل چندین میوه می باشد، که مهمترین آنها شامل پرتقال شیرین (۶۷/۸ درصد)، نارنگی (۱۷/۹ درصد)، لیمو (۶/۳ درصد)، گریپ فروت (۵ درصد) و پرتقال ترش (۳ درصد) و همچنین چندین میوه با تولید کمتر می باشد (۱). تفاله مرکبات یک محصول فرعی می باشد که در کشور های مدیترانه ای به مقدار زیاد تولید می شود (۲). به طور مثال در ایتالیا در سال ۲۰۰۱-۲۰۰۰ مقدار ۳۱۴۳۹۰۰ تن مرکبات تولید شده است که ۱۳۷۶۶۰۰ تن آن در صنایع آبمیوه گیری مورد استفاده قرار گرفته است (۳). در نتیجه فراوری در کارخانجات، باقیمانده های جامد شامل پوست (Peel)، پوسته های داخلی (Pulp) (پوست قاچهای میوه)، غشاء و رشته مرکزی میوه (Rag)، دانه و باقیمانده های نیمه جامد حاصل از سانتریفیوژ کردن آب مرکبات می باشد (۱ و ۳). این اجزاء به صورت مجزا و یا مخلوط، محصولات جنبی مرکبات می باشند. تفاله تازه مرکبات محصول جنبی اصلی در فرایند آبگیری می باشد که ۴۹۲ تا ۶۹۲ گرم از هر کیلوگرم میوه عمل آوری شده را تشکیل می دهد. در هر کیلوگرم ماده خشک تفاله تازه، پوست ۶۵۰ - ۶۰۰، قسمت های داخلی میوه ۳۵۰ - ۳۰۰ و دانه ۱۰۰ - ۰ گرم را تشکیل می دهد (۱). در پرتقال و گریپ فروت بعد از آبگیری ۴۵ تا ۶۰ درصد میوه به تفاله تبدیل می شود (۲ و ۴). یک محصول فرعی دیگر مرکبات ملاس است که با تغلیظ مایع حاصل از فشردن پوست تولید می شود. ملاس مرکبات طعمی تلخ داشته و در هر کیلوگرم آن ۱۵۰ - ۱۰۰ گرم مواد محلول وجود دارد که ۷۰ - ۵۰ گرم آن شکر است (۱).

تفاله مرکبات یک ماده خوراکی با ارزش می باشد که شامل طیف وسیعی از مواد مغذی انرژی زا برای میکرو ارگانیسم های شکمبه می باشد (۲، ۳ و ۵)، تفاله مرطوب معمولاً در مسافت های کوتاه حمل می شود زیرا رطوبت بالای آن سبب افزایش هزینه حمل و نقل می شود. مقدار زیاد قندهای محلول در آن اغلب موجب تخمیر و یا سبب رشد کپک ها شده و یا مورد حمله پشه ها قرار می گیرد. لذا تفاله های تازه سبب

بوجود آمدن مشکلات اقتصادی و زیست محیطی می شوند، لذا آنها خشک شده و در حیوانات مصرف می شوند (۶ و ۳). معمولاً در طی خشک کردن تفاله مرکبات اکسید کلسیم و یا هیدرواکسید کلسیم افزوده می شوند تا به فرایند خشک کردن کمک کند. وزن حجمی تفاله خشک بین ۳۰۳ تا ۳۲۴ کیلوگرم در هر تن می باشد. پلت کردن وزن حجمی تفاله را تا ۱/۷ برابر افزایش می دهد (۱). در ضمن هر ساله مقادیر زیادی مرکبات تازه به جیره نشخوارکنندگان افزوده می شود. این مرکبات آنهاست که قابل عرضه به بازار نبوده و یا به علت تولید به مقدار زیاد در انسان یا صنایع آب مرکبات گیری قابل استفاده نیستند (۷). تفاله مرکبات تازه بخوبی در گاوهای شیرده مصرف می شود. اما حمل نقل، انبار کردن و تعلیف آنها مشکل می باشد (۱).

۲- مواد و روش ها

در ابتدا نمونه های پوست پرتقال جمع آوری شده، در برابر آفتاب خشک شدند و یک نمونه از آن ها جهت تعیین ترکیب شیمیایی تفاله مورد بررسی قرار گرفت. میزان پروتئین خام نمونه ها با استفاده از دستگاه کلدال، خاکستر خام با سوزاندن هر نمونه در کوره الکتریکی و عصاره اتری طبق روش های استاندارد (AOAC) تعیین گردید (۸). مقدار دیواره سلولی با استفاده از شوینده خنثی و دیواره سلولی بدون همی سلولز با استفاده از محلول شوینده اسیدی بر اساس روش ون سوست (۹) تعیین گردید.

به منظور آماده سازی شرایط بهینه رشد مخمر ساکارومایسز سروسیا می بایست رطوبت و اسیدیته تفاله پرتقال مناسب می شد. تفاله ها پس از خشک شدن به نسبت ۱ به ۲ با آب مخلوط شدند (۱ تفاله: ۲ آب) تا رطوبت نسبی معادل ۸۵ درصد برای رشد مخمر فراهم گردد. pH نمونه بوسیله دستگاه pH متر اندازه گیری شد که برابر با ۴/۸ بود. pH مناسب برای رشد مخمر حدود ۴-۶ است و این زمینه رشد مخمر را از لحاظ اسیدیته فراهم می کرد. برای تلقیح مخمر و عمل آوری ضایعات پرتقال یک پیش آزمایش انجام گرفت که طی آن ساعت های مختلف عمل آوری و سطوح متفاوت مخمر مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

جدول شماره ۱: نتایج مربوط به تعیین مدت زمان و سطح استفاده از مخمر برای تولید بیشترین سطح پروتئین خام

نمونه	مدت زمان (ساعت)	مقدار مخمر (درصد)	پروتئین خام
۱ (شاهد)	۰	۰	۷/۹۳
۲	۶	۱	۸/۱
۳	۱۲	۲	۹/۴
۴	۱۲	۴	۱۱/۰۰
۵	۲۴	۴	۱۶/۵

با توجه به این نتایج تصمیم گرفته شد که از نمونه شماره ۵ در این آزمایش استفاده شود. بعد از عمل آوری، نمونه ها در آن قرار داده شده و خشک شدند. سپس نمونه ها آسیاب شده و همراه با نمونه عمل آوری نشده به آزمایشگاه منتقل گردید تا درصد ترکیبات شیمیایی و میزان تجزیه پذیری با روش آزمایشگاهی (*In-vitro*) تعیین شود.

۲-۱- مراحل انجام روش *In-vitro*

این روش که در آزمایشگاه و بر طبق روش دو مرحله ای تیلی و تری (۱۹۶۳) انجام گرفت، به شرح زیر بود: مقدار ۰/۵ گرم از نمونه های آسیاب شده با الک یک میلیمتری هر یک از تفاله پرتقال فراوری شده و تفاله پرتقال فراوری نشده داخل لوله های آزمایش ریخته شد. برای هر یک از نمونه ها چهار تکرار در نظر گرفته شد.

تهیه شیرابه شکمبه: برای تهیه شیرابه از سه رأس گوسفند نر کرمانی فیستولا گذاری شده استفاده شد. به این ترتیب که در یک زمان مشخص از روز (ساعت ۸ صبح) و قبل از دادن خوراک به گوسفندها شیرابه از طریق فیستولا تهیه می شد. شیرابه را در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و کاملاً پر نموده و درب آنها محکم بسته شد (جهت حفظ شرایط بی هوازی). ضمن حمل به آزمایشگاه، در یک فلاسک آب ۳۹ درجه سانتی گراد نگهداری می شد. در آزمایشگاه شیرابه شکمبه بوسیله دو لایه پارچه مخصوص (تنظیف) صاف و در یک ارلن درب دار ریخته

می شد. پس از وارد نمودن گاز دی اکسید کربن برای چند ثانیه درب آن محکم بسته و در حمام بن ماری ۳۹ درجه سانتی گراد قرار داده می شد.

تهیه بزاق مصنوعی: مقدار ۹/۸ گرم بی کربنات سدیم، ۳/۷۱ گرم فسفات هیدروژن دی سدیم دهیدرات (بدون آب)، ۰/۵۷ گرم کلرید پتاسیم، ۰/۴۷ گرم کلرید کلسیم و ۰/۱۲ گرم سولفات منیزیم در آب مقطر دو بار تقطیر شده حل گردید و در یک بالن یک لیتری به حجم رسانده شد.

هضم بی هوازی: حدود نیم ساعت قبل از هضم بی هوازی، یک میلی لیتر محلول ۴ درصد کلرید کلسیم به هر لیتر بزاق مصنوعی (بافر) اضافه شد و با وارد کردن گاز دی اکسید کربن به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه pH محلول به ۶/۹ تا ۷ کاهش داده شد. سپس بزاق مصنوعی و شیرابه شکمبه به نسبت ۴ به ۱ (۴ حجم بزاق با ۱ حجم شیرابه) با هم مخلوط و در حمام بن ماری به محلول بدست آمده به مدت ۴ تا ۵ دقیقه گاز دی اکسید کربن وارد گردید. سپس ۵۰ میلی لیتر مخلوط تهیه شده از بزاق مصنوعی و شیرابه شکمبه به هر یک از ارلن های شاهد و نمونه اضافه و به مدت ۱۵ ثانیه گاز دی اکسید کربن وارد کرده و درب آنها را محکم بسته و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه در دمای ۳۹ درجه سانتی گراد قرار داده شد. روز اول ۲ بار و روز دوم ۳ بار به فواصل زمانی مساوی ارلن ها تکان داده می شدند.

هضم پیپسین اسیدی: در پایان ۴۸ ساعت هضم بی هوازی، ارلن ها را از گرمخانه خارج و به هر یک از آنها ۶ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲۰ درصد اضافه شده و سپس ۲ میلی لیتر محلول پیپسین ۲۰ درصد اضافه شده و به مدت ۴۶ ساعت در گرمخانه نگهداری شدند. در این مرحله نیز مانند مرحله قبل روز اول دو بار و روز دوم سه بار محتویات ظروف به هم زده می شد.

جداسازی محتویات هضم نشده: در پایان هضم مواد خوراکی با پیپسین، نمونه ها را با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ بدون خاکستر، قیف بوخنر و پمپ خلاء صاف کرده و محتویات هضم نشده از فاز مایع جدا می شد.

تعیین باقیمانده هضم و خاکستر: کاغذ صافی ها که حاوی مواد صاف نشده می باشد به آرامی از قیف بوخنر جدا و پس از تا نمودن برای مدت ۲۴ ساعت در آون با حرارت ۱۰۵ درجه سانتی گراد خشک شده و پس از انتقال به دسیکاتور و سرد شدن کاغذ صافی و محتویاتشان دقیقاً توزین می شدند. سپس جهت تعیین خاکستر آنها، در داخل کوره ۵۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴ ساعت قرار داده شدند. بعد از جمع آوری داده ها با استفاده از فرمول، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، ماده خشک و انرژی قابل متابولیسم کلیه نمونه ها محاسبه گردید.

$$1) \times 100 \left[\text{وزن خشک کاغذ صافی} - \text{وزن نمونه خالص و کاغذ صافی} \right] - \left[\text{وزن خشک کاغذ صافی} - \text{وزن کاغذ صافی و بقایای هضم} \right] - \left[\text{وزن اولیه نمونه} \right] = \text{قابلیت هضم ماده خشک} \\ \text{وزن خشک نمونه اولیه}$$

$$2) \times 100 \left[\text{وزن خاکستر نمونه خالص} - \text{وزن نمونه خالص و کاغذ صافی} \right] - \left[\text{وزن خاکستر بقایا} - \text{وزن خشک کاغذ صافی} - \text{وزن خشک کاغذ صافی و بقایای هضم} \right] - \left[\text{وزن خاکستر نمونه} - \text{وزن اولیه نمونه} \right] = \text{قابلیت هضم ماده آلی} \\ \left(\text{وزن خاکستر نمونه اولیه} - \text{وزن خشک نمونه اولیه} \right)$$

$$3) \times 100 \left[\text{وزن خاکستر نمونه خالص} - \text{وزن خشک کاغذ صافی} - \text{وزن نمونه خالص و کاغذ صافی} \right] - \left[\text{وزن خاکستر بقایا} - \text{وزن خشک کاغذ صافی} - \text{وزن خشک کاغذ صافی و بقایای هضم} \right] - \left[\text{وزن خاکستر نمونه} - \text{وزن اولیه نمونه} \right] = \text{ماده آلی قابل هضم در ماده خشک} \\ \text{وزن خشک نمونه اولیه}$$

$$4) \text{ کیلوگرم ماده خشک / گرم} \left(\text{ماده آلی قابل هضم در ماده خشک} \right) \times 0.157 = \text{کیلوگرم ماده خشک / مگا ژول} \text{ انرژی قابل متابولیسم}$$

۳- نتایج و بحث

با فرآوری تفاله پرتقال درصد ترکیبات شیمیایی آن دستخوش تغییراتی شد (جدول ۲)، به این صورت که میزان پروتئین خام تفاله پرتقال به طور معنی داری ($P < 0.01$) افزایش یافت. علت آن می تواند افزایش رشد و تکثیر مخمر باشد که باعث افزایش بار پروتئینی تفاله پرتقال شده است. درصد دیواره سلولی نیز به طور معنی داری ($P < 0.01$) افزایش یافت. همچنین درصد دیواره سلولی بدون همی سلولز نیز به طور معنی داری ($P < 0.01$) افزایش یافت. میزان خاکستر خام تفاله پرتقال با عمل آوری آن افزایش یافت و این قضیه منجر به کاهش مواد آلی

موجود در تفاله پرتقال فرآوری شده گردید ($P < 0.01$). همچنین عصاره اتری تفاله پرتقال فرآوری شده در مقایسه با تفاله پرتقال فرآوری نشده به طور معنی داری ($P < 0.01$) کاهش یافت. بروون و جانسون (۱۹۹۱) دریافتند که در تجزیه پذیری آزمایشگاهی، تفاله خشک مرکبات دارای قابلیت هضم ماده آلی برابر ۰/۸۷۲، قابلیت هضم دیواره سلولی برابر ۰/۷۵۸ و قابلیت هضم دیواره سلولی بدون همی سلولز برابر ۰/۸۲۱ بود.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی تفاله پرتقال فرآوری نشده و تفاله پرتقال فرآوری شده با مخمر

ترکیب شیمیایی	تفاله پرتقال فرآوری نشده	تفاله پرتقال فرآوری شده	سطح معنی دار
پروتئین خام (درصد)	۸/۰۳ ± ۰/۴۱	۱۶/۵ ± ۰/۴۱	۰/۰۰۰۱
دیواره سلولی (درصد)	۱۷/۱۷ ^a ± ۱/۰۷	۲۶/۷۷ ^b ± ۱/۰۷	۰/۰۰۳۲
دیواره سلولی بدون همی سلولز (درصد)	۱۶/۳۸ ^a ± ۱/۰۱	۲۸/۶۳ ^b ± ۱/۰۱	۰/۰۰۱
خاکستر خام (درصد)	۳/۷۰ ^a ± ۰/۱۴	۶/۰۲ ^b ± ۰/۱۴	۰/۰۰۰۳
ماده آلی (درصد)	۹۶/۲۹ ^a ± ۰/۱۴	۹۳/۹۷ ^b ± ۰/۱۴	۰/۰۰۰۳
عصاره اتری (درصد)	۸/۳۴ ^a ± ۰/۳۴	۳/۷۲ ^b ± ۰/۳۴	۰/۰۰۰۷

نتایج حاصل از تعیین تجزیه پذیری تفاله پرتقال عمل آوری نشده و عمل آوری شده با مخمر ساکارومایسز سرویسیا (جدول ۳) مشخص کرد که عمل آوری تفاله پرتقال با مخمر هیچ تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و ماده آلی قابل هضم در ماده خشک نداشت. همچنین انرژی قابل متابولیسم نیز با عمل آوری با مخمر تغییر معنی داری نکرد. لانزا (۱۹۸۴) گزارش کرد که کاهش در قابلیت هضم پروتئین خام در بعضی از تفاله خشک مرکبات ممکن است به دلیل دمای بالا به هنگام خشک کردن باشد.

جدول ۳: میانگین قابلیت هضم تفاله پرتقال فرآوری نشده و تفاله پرتقال فرآوری شده با مخمر (بر اساس ماده خشک)

قابلیت هضم	تفاله پرتقال فرآوری نشده	تفاله پرتقال فرآوری شده	سطح معنی دار
ماده خشک (درصد)	۶۳/۴۱ ± ۸/۱۱	۴۸/۴۶ ± ۸/۱۱	۰/۲۶۲۵
ماده آلی (درصد)	۶۱/۶۶ ± ۷/۲۸	۶۰/۹۴ ± ۷/۲۸	۰/۹۴۷۷
ماده آلی در ماده خشک (درصد)	۵۹/۲ ± ۶/۹۰	۵۸/۷۶ ± ۶/۹۰	۰/۹۶۶۲
انرژی متابولیسمی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)	۸/۹۶ ± ۱/۰۸	۹/۳۹ ± ۱/۰۸	۰/۷۹۶۴

۴- نتیجه گیری و پیشنهادات

با توجه به نتایج این آزمایش می توان با عمل آوری تفاله پرتقال بوسیله مخمر ساکارومایسز سرویسیا درصد پروتئین خام را افزایش داد و این از نظر استفاده در تغذیه دام دارای اهمیت و قابل توجه است، زیرا پوست پرتقال دارای منبع غنی فیبر خوراکی در تغذیه دام است و افزایش بار پروتئینی، این محصول را به عنوان یک خوراک دامی ویژه مطرح می کند.

۵- سپاسگزاری

این آزمایش با پشتوانه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به انجام رسید که در اینجا از حمایت و همکاری ایشان تشکر و قدر دانی می شود.

منابع مورد استفاده

- [1] Bampidis, V. A., and P. H. Robinson. "Citrus by- products as ruminant feeds: A review". *Animal Feed Science and Technology*. 2006.
- [2] Scerra, V., P. Caparr, F. Foti, M. Lanza, and A. Priolo. "Citrus pulp and wheat straw silage as an ingredient in lamb diets: effect on growth and carcass and meat quality". *Small Ruminant Research*. 51: 51-56. 2001.
- [6] Fegeros, K., G. Zervas, S. Stamouli, and E. Apostolaki. "Nutritive value of Dried citrus pulp and effect on milk and milk composition of lactating ewes". *J. Dairy Sci.* 78: 1116- 1121. 1995.
- [5] Miron, J., E. Yosef, D. Ben- Ghedali and L. E. Chase, D. E. Bauman, and R. Solomon, " Digestibility by dairy cows of monosaccharids constituents in total mixed rations containing citrus pulp". *J. Dairy Sci.* 85: 89-94. 2002.
- [3] Tripodo, M.M., F. Lanuzza, G. Micali, R. Coppolino and F. Nucita. "Citrus waste recovery: a new environmentally friendly procedure to obtain animal feed". *Bioresource Technology*. 91: 111-115. 2004.
- [7] Volanis, M., P. Zoiopoulos, and K. Tzerakis. "Effect of feeding sliced oranges to lactating dairy sheep". *Small Ruminant Research*. 53: 15 – 21. 2004.
- [8] AOAC. Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official methods of analysis, Fourteenth Edition. AOAC, Washington, DC. 1990.
- [10] Tilly, J. M and R. A. Terry. " A two-stage technique for the in-vitro digestion of forage crops". *J. B. Grassl. Soc.* 18: 104-111. 1963.
- [9] Van Soest, P.J., J.B. Robertson, and B.A. Lewis. "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition". *J. Dairy Sci.* 74: 3583-3597. 1991.
- [11] Brown, W.F., and Johnson, D.D., "Effects of energy and protein supplementation of ammoniated tropical grass hay on the growth and carcass characteristics of cull cows". *J. Anim. Sci.* 69, 348-357. 1991.
- [12] Lanza, A., "Dried citrus pulp in animal feeding. In: Holl'o, J. (Ed.), Proceedings of the International Symposium on Food Industries and the Environment". Budapest, Hungary. Elsevier Publishers, New York, NY, USA, pp. 189-198. 1984.