

Effect of sugarcane bagasse processing with alkalin compounds at different times on chemical compositions, digestibility and rumen fermentation parameters in vitro

F Jafarian¹, F Fatahnia², S R Mousavi³, M shamsollahi*⁴, and P Darat⁵

Received: 2025-03-16 Revised: 2025-07-21 Accepted: 2025-08-25

¹MSc graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

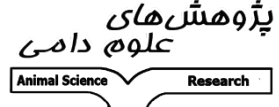

³Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

²Ph.D, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

⁴Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

⁵MSc graduated, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran

*Corresponding author: Email: m.shamsolahi@ilam.ac.ir

	<p>Journal of Animal Science Research / vol.35 No.4/ 2026/pp 47-64 https://animalscience.tabrizu.ac.ir</p>	
<p>© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/) DOI: 10.22034/AS.2025.66390.1775</p>		

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 (Madadi et al 2023). Sugarcane is a major global crop primarily cultivated for sugar production 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 is widely used as animal feed, particularly in tropical regions. 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 (Pipitpukdee et al 2020). 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%; Ahmed *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2013). Some livestock producers use unprocessed SB in ruminant nutrition, which is not accompanied by desirable results on animal performance (Nogueira et al 2022; Kraiprom et al 2022). Various methods including physical, chemical, and biological processing are used to change the physical and chemical nature of SB to improve its digestibility (Balgees et al 2007; Rezaii et al 2022; Khawar et al 2023). Therefore, the aim of this experiment was to investigate dry matter (DM) and organic matter (OM) digestibility and *in vitro* ruminal fermentation parameters of diets containing sugarcane bagasse (SB) treated with urea (U) calcium hydroxide (CaH) at different times.

Materials and methods: For each processing method, 6 one-kilogram samples of sugarcane bagasse were considered. One liter of solution was added to each kilogram of sugarcane bagasse and mixed thoroughly. Also, 6 one-kilogram samples of bagasse were considered as controls (without processing), and each was mixed with one liter of water without urea or calcium hydroxide. All samples inside 2-layer nylons were well compressed and sealed. Then, 3 one-kilogram samples of sugarcane bagasse mixed with alkaline solution and 3 control samples were silaged for 30 days and the rest for 45 days at

room temperature. After the end of the desired time, the samples were taken out of the nylon and exposed to air for 5 days and stored for chemical analysis after drying. Then, experimental diets were prepared using these processed sugarcane bagasse samples. The SB was treated with solution containing different content of urea (4 or 3%) and calcium hydroxide (1 or 2%) for two times (30 or 45 days). Then, experimental diets were formulated by using treated SB. Experimental treatments were 1- diet containing untreated SB stored for 30 days (Control, C-30), 2- diet containing treated SB with 4% U and 1% CaH stored for 30 d (U4CaH1-30), 3- diet containing treated SB with 3% U and 2% CaH solution stored for 30 d (U3CaH2-30), 4- diet containing untreated SB stored for 45 d (C-45), 5- diet containing treated SB with 4% U and 1% CaH stored for 45 d (U4CaH2-30), and 6- diet containing treated SB with 3% U and 2% CaH solution stored for 45 d (U3CaH2-45). The SB treated with different methods at different times and experimental diets were dried in an oven at 60 ° C for 48 hours, ground through a 1-mm screen using a Wiley mill, and analysed for dry matter (DM), organic matter (OM), crude protein (CP) (AOAC 2007) and neutral detergent fibre (NDF) (Van Soest et al 1991). For measurement of methane production, the final gas production (end of 24 hours) was recorded after 24 hours of incubation of the sample in ruminal fluid + phosphate buffer. Experiment conducted by gas production technique (Menke and Steingass 1988) based on completely randomized design as 2×3 factorial.

Results and discussion: The effect of different processing methods at different times on chemical composition of SB is shown in Table 3. Results showed that the highest DM content was observed in C-45 ($P<0.05$). Whereas, SB treated with 3% U and 2% CaH and preserved for 30 or 45 d had lower DM content compared to others ($P<0.05$). The highest and the lowest OM content were observed in SB untreated and preserved for 30 d and SB treated with 3% U and 2% CaH and preserved for 45 d, respectively ($P<0.05$). Treatment of SB with U and CaH increased crude protein (CP) content compared untreated SB ($P<0.05$). The SB treated with U and CaH and preserved for 30 or 45 d had lower neutral detergent fiber (NDF) compared to untreated SB ($P<0.05$). The highest ash content was observed in SB treated with 3% U and 2% CaH and preserved for 45 d ($P<0.05$). Ruminal fermentation parameters of diets containing SB processed by different methods at different times is shown in Table 4. The lowest 24 h cumulative gas production (CGP) and OM digestibility were observed in C-30 and C-45 diets ($P<0.05$). Methane production, Partitioning factor, Microbial biomass yield and DM digestibility did not influence by experimental diets ($P>0.05$). Gas production parameters of diets containing SB processed by different methods at different times are shown in Table 5. The U3CaH2-45 diet had higher 96 h CGP and gas production potential than other diets ($P<0.05$). The U3CaH2-30 and U3CaH2-45 had the lowest lag time ($P<0.05$). Diets containing SB processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution and stored for 30 and 45 days had the highest cumulative gas production ($P<0.05$).

Conclusion: In general, treatment of SB with 3% U and 2% CaH solution and preserved for 30 d improved OM digestibility and gas production and can be used as a method for improvement of nutritional value of SB for using in diets of ruminant animals.

Keywords: Sugarcane bagasse, Treatment, Urea, Calcium hydroxide, Dry matter and organic matter digestibility, Ruminal fermentation.

تأثیر عمل‌آوری باگاس نیشکر با ترکیبات قلیایی در زمان‌های مختلف بر ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط برون‌تنی

فاطمه جعفریان^۱، فرشید فتاح‌نیا^۲، سید رضاموسوی^۳، محمد شمس‌الهی^{۴*}، پریسا ارات^۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۶ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۲ استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۳ دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۴ استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

^۵ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

* مسئول مکاتبه: m.shamsolahi@ilam.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعه: باگاس نیشکر یکی از محصولات جانبی کارخانجات تولید قند است که حاوی فیبر بالایی می‌باشد و قیمت آن در مقایسه با کاه گندم پایین‌تر است. **هدف:** بنابراین هدف این آزمایش مطالعه قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با ترکیبات قلیایی به روش‌های مختلف در شرایط برون‌تنی بود. **روش کار:** تیمارهای آزمایش شامل ۱- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌نشده و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۲- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۱ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۳- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۳ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۴- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌نشده و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز، ۵- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۱ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز و ۶- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۳ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز بودند. داده‌های ترکیبات شیمیایی، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و آزمایش مؤلفه‌های تولید گاز به صورت فاکتوریل ۲×۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی، آنالیز آماری شدند. **نتایج:** بالاترین درصد ماده خشک در تیمار ۴ مشاهده شد ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین درصد ماده آلی به ترتیب در تیمار ۱ و ۶ مشاهده شد ($P < 0.05$). تیمار ۶ در مقایسه با سایر تیمارها تولید گاز تجمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز بیشتری داشت ($P < 0.05$). **نتیجه‌گیری نهایی:** به طور کلی، عمل‌آوری باگاس با محلول اوره ۳ درصد و هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز (تیمار ۳) سبب بهبود قابلیت هضم ماده آلی و افزایش تولید گاز شد. بنابراین از این روش می‌توان برای بهبود ارزش غذایی باگاس نیشکر در جیره حیوانات نشخوارکننده استفاده کرد.

کلیدواژه‌ها: باگاس نیشکر، عمل‌آوری، اوره، هیدروکسید کلسیم، قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی، تخمیر شکمبه

مقدمه

پسماندهای محصولات کشاورزی می‌تواند بخش مهمی از خوراک نشخوارکنندگان را تأمین کنند، اما در حال حاضر به دلایل فقر مواد مغذی، قابلیت هضم پایین، حجیم بودن و هزینه‌های حمل‌ونقل بالا، کمتر استفاده می‌شوند (مددی و همکاران ۲۰۲۲). راهکار کلیدی برای دستیابی به ارزش افزوده و پایدار از نظر زیست‌محیطی و تأمین خوراک دام، تبدیل ضایعات و پسماندهای کشاورزی و صنعتی به خوراک دام است (کرایپروم و همکاران ۲۰۲۲ و سو همکاران ۲۰۲۲). از جمله این پسماندهای کشاورزی، نیشکر است. نیشکر یکی از مهم‌ترین محصولات اقتصادی در سطح جهان است و بیشتر به‌عنوان ماده اولیه در صنعت تولید شکر استفاده می‌شود (پیپتیپوکی و همکاران ۲۰۲۰). نیشکر محصولی است که در بیش از ۱۰۰ کشور در سرتاسر جهان تولید می‌شود و توده زیستی آن می‌تواند به‌عنوان خوراک دام استفاده شود. باگاس نیشکر یکی از بقایای الیافی است که پس از استخراج آب از ساقه نیشکر، باقی می‌ماند و می‌تواند به‌عنوان منبع علوفه برای نشخوارکنندگان استفاده شود (احمد و همکاران ۲۰۱۳). برخی از دامداران از باگاسی که هیچ‌گونه عمل‌آوری روی آن انجام نشده است در تغذیه دام‌ها استفاده می‌کنند، این باعث می‌شود به دلیل قابلیت‌هضم پایین باگاس، مقدار استفاده از آن در جیره محدود شود و احتمالاً قابلیت‌هضم کل جیره را نیز کاهش دهد (نوگویرا و همکاران ۲۰۲۲). باگاس نیشکر حاوی پروتئین پایین (کمتر از ۳ درصد بر اساس ماده خشک)، سلولز بالا (بیشتر از ۴۰ درصد بر اساس ماده خشک)، همی‌سلولز بالا (کمتر از ۳۵ درصد ماده خشک)، لیگنین بالا (۱۵ درصد ماده خشک) و قابلیت‌هضم ماده خشک پایین (۲۰ تا ۳۰ درصد) می‌باشد (کوستا و همکاران ۲۰۱۳). که مصرف آن در تغذیه دام، منجر به کاهش عملکرد می‌شود (کرایپروم و همکاران ۲۰۲۲). از روش‌های گوناگونی برای تغییر ماهیت فیزیکی و شیمیایی این مواد خوراکی به منظور بهبود قابلیت هضم از طریق شکستن اجزای دیواره سلولی استفاده می‌شود که

می‌توان به عمل‌آوری فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی اشاره کرد (بالگس و همکاران ۲۰۰۷). از جمله روش‌های شیمیایی رایج برای افزایش قابلیت هضم این مواد الیافی می‌توان به استفاده از محلول‌های شیمیایی مانند اوره، هیدروکسید سدیم و هیدروکسید کلسیم اشاره کرد (رضایی و همکاران ۲۰۲۳). برای مثال، بسیاری از تحقیقات بر اهمیت استفاده از افزودنی‌هایی مانند اوره در راستای افزایش ارزش غذایی به ویژه قابلیت هضم مواد خشبی تأکید دارند (خاور و همکاران ۲۰۲۴). مطالعات نشان دادند که ارزش غذایی باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با اوره از نظر میزان پروتئین خام و قابلیت هضم شکمبه‌ای افزایش یافت. این امر می‌تواند به دلیل اثر آنزیم اوره‌آز آزادکننده آمونیاک از اوره و آمونیاک بر دیواره سلولی باگاس باشد (احمد و همکاران ۲۰۱۳ و بالگس ۲۰۱۵). محلول‌های قلیایی مانند اوره و هیدروکسید کلسیم، محیط قلیایی لازم برای شکستن پیوندهای لیگنینی را فراهم می‌کنند و دسترسی میکروارگانسیم‌های شکمبه به لایه‌های زیرین لیگنین (سلولز و همی‌سلولز) را افزایش داده و بنابراین قابلیت‌هضم افزایش می‌یابد (کاستانون-رودریگوئز و همکاران ۲۰۱۵). مطالعات برون‌تنی دارای مزایایی مانند انجام تکرار بیشتر، سهولت انجام کار و عدم نیاز به حیوان زنده می‌باشند. بنابراین، می‌توان پژوهش حاضر را در راستای تکمیل مطالعات برون‌تنی باگاس در نظر گرفت. همچنین مطالعات اندکی در مورد اثر ترکیب همزمان مواد شیمیایی مانند هیدروکسید کلسیم و اوره بر روی باگاس نیشکر انجام شده است. از طرف دیگر، یکی از عواملی که ممکن است عمل‌آوری شیمیایی باگاس را تحت تأثیر قرار دهد، مدت زمان عمل‌آوری باگاس است که در مورد باگاس تاکنون کار مشابهی انجام نشده است. بنابراین، هدف از انجام این مطالعه، بررسی تخمیری شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با سطوح مختلف اوره و هیدروکسید کلسیم در زمان‌های مختلف عمل‌آوری در شرایط برون‌تنی بود. ما در این مطالعه فرض کردیم که ترکیب روش‌های شیمیایی و فیزیکی و همچنین طول مدت

و موم شدند. سپس ۳ نمونه ۱ کیلوگرمی از نمونه‌های باگاس نیشکر مخلوط‌شده با محلول مواد قلیایی و ۳ نمونه شاهد برای مدت ۳۰ روز و بقیه برای مدت ۴۵ روز در دمای اتاق سیلو شدند. پس از پایان زمان مورد نظر، نمونه‌ها از درون نایلون خارج و به مدت ۵ روز در معرض هوا قرار گرفتند و پس از خشک شدن، برای آنالیز شیمیایی ذخیره شدند (AOAC ۲۰۰۷). سپس با استفاده از نمونه‌های باگاس عمل‌آوری‌شده، جیره‌های آزمایشی بر اساس توصیه‌های NRC (۲۰۰۷) تهیه و آماده شدند. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌نشده و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۲- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۱ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۳- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۳ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز، ۴- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌نشده و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز، ۵- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۱ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز و ۶- جیره حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۳ درصد و محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۴۵ روز بودند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ و ۲ آمده است.

زمان عمل‌آوری، بهترین نتیجه را در افزایش قابلیت‌هضم باگاس داشته باشد. بنابراین هدف این مطالعه بررسی عمل‌آوری شیمیایی (هیدروکسید کلسیم و اوره) و فیزیکی (ذخیره‌سازی در کیسه) و مدت زمان ذخیره‌سازی (۳۰ یا ۴۵ روز) بر قابلیت‌هضم و فراسنجه‌های تخمیر شکمبه در شرایط پروتئی بود.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های باگاس نیشکر از کارخانه نیشکر هفت‌تپه استان خوزستان تهیه و پس از خشک کردن در آون، به وسیله آسیاب دارای الک یک میلی‌متری خرد شد. سپس نمونه‌های باگاس نیشکر متناسب با نوع تیمار با محلول اوره (۳ یا ۴ درصد) و هیدروکسید کلسیم (۱ یا ۲ درصد) عمل‌آوری شدند. انتخاب سطح عمل‌آوری برای اوره و هیدروکسید کلسیم با توجه به مطالعات قبلی انجام شد (خاور و همکاران ۲۰۲۴؛ کرایپروم و همکاران ۲۰۲۲؛ دهقانی و همکاران ۲۰۲۱؛ حامد و همکاران ۲۰۱۲ و بالگیس ۲۰۰۷). برای هر روش عمل‌آوری، ۶ نمونه ۱ کیلوگرمی باگاس نیشکر در نظر گرفته شد. به هر کیلوگرم باگاس نیشکر یک لیتر محلول اضافه و کاملاً مخلوط شد (گونن و همکاران ۲۰۱۶). همچنین ۶ نمونه یک کیلوگرمی باگاس به‌عنوان شاهد (بدون عمل‌آوری) در نظر گرفته شد و هر کدام با یک لیتر آب بدون اوره یا هیدروکسید کلسیم مخلوط شد. همه نمونه‌های داخل نایلون‌های ۲ لایه به خوبی فشرده و مهر

Table 1- Feedstuff ingredients of experimental diets containing bagasse processed by different methods at different times

	30 days processing time			45 days processing time		
	No additives	4% urea + 1% calcium hydroxide	3% urea + 2% calcium hydroxide	No additive	4% urea + 1% calcium hydroxide	3% urea + 2% calcium hydroxide
Feed composition (percentage of dry matter)						
Bagasse (sugarcane bagasse)	15	15	15	15	15	15
Alfalfa hay	10	10	10	10	10	10
Wheat straw	5	5	5	5	5	5
Oak acorn	22	22	22	22	22	22
Date kernel powder	8	8	8	8	8	8
Corn grain	5	5	5	5	5	5
Barley grain	5	5	5	5	5	5
Molasses	3.8	4.1	4.1	3.8	4.1	4.1
Soybean meal	3	3	3	3	3	3
Chicken meal	7	7	7	7	7	7
Urea	1.1	0.8	0.8	1.1	0.8	0.8
Corn gluten meal	1	1	1	1	1	1
Fish meal	1	1	1	1	1	1
Olive pomace	8	8	8	8	8	8
Wheat bran	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2	3.2
Sodium bicarbonate	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
¹ Mineral and vitamin supplement	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Salt	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

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.

Table 2- Chemical composition of experimental diets containing bagasse processed by different methods at different times

	30 days processing time			45 days processing time		
	No additives	4% urea + 1% calcium hydroxide	3% urea + 2% calcium hydroxide	No additive	4% urea + 1% calcium hydroxide	3% urea + 2% calcium hydroxide
Feed composition (percentage of dry matter)						
Metabolizable energy (Mcal/kg of DM)	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36	2.36
Crude protein	13.74	13.9	14.1	13.9	13.9	14.1
RUP	3.7	3.9	3.9	3.9	3.9	3.9
RDP	10.2	10	10.2	10	10	10.2
Non-fibrous carbohydrates	34.6	34.7	34.6	34.7	34.7	34.6
Crude fat	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3	4.3
Neutral detergent fibers	39.3	39.8	39.8	39.8	39.8	39.8
Acid detergent fibers	17.7	17.7	17.7	17.7	17.7	17.7
Calcium	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1	1.1
Phosphorus	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8

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.

اندازه‌گیری ترکیب شیمیایی

محتوای ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، کلسیم و فسفر نمونه‌های باگاس و جیره‌های آزمایشی بر اساس روش‌های استاندارد (OAC, 2007) و لیاف شوینده خنثی نمونه‌ها بر اساس روش پیشنهادی (ون‌سوست و همکاران 1991) در 3 تکرار اندازه‌گیری شد. انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی با استفاده از ترکیب شیمیایی و تولید گاز 24 ساعت آنها بر اساس معادله پیشنهادی تخمین زده شد (منک و استینگاس 1988).

آزمون تولید گاز 24 و 96 ساعت

برای تعیین فراسنجه‌های تولید گاز، ابتدا مایع شکمبه با استفاده از لوله مری از 2 راس گاو هلشتاین بالغ جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز از روش (بلومل و همکاران 1997، ماکار، 2010) استفاده شد. برای آزمون تولید گاز 24 ساعت، مقدار 500 میلی‌گرم و آزمون تولید گاز 96 ساعت مقدار 200 میلی‌گرم وزن خشک از هر کدام از جیره‌های آزمایشی به درون بطری‌های شیشه‌ای 120 میلی‌لیتری مخصوص تولید گاز ریخته شد. برای هر تیمار آزمایشی، 3 بطری (تکرار) در نظر گرفته شد. 3 بطری بدون نمونه خوراک نیز به‌عنوان بلانک در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که آزمون تولید گاز 24 و 96 ساعت 2 بار (Run) انجام شد، به گونه‌ای که در نهایت برای هر جیره آزمایشی در مجموع 6 تکرار در نظر گرفته شد. برای تهیه بزاق مصنوعی از 315 میلی‌لیتر بافر بیکربنات سدیم، 157/50 میلی‌لیتر مکمل مواد معدنی پرمصرف، 80 میکرولیتر محلول رزاورین، 30 میلی‌لیتر محلول احیاکننده و 472/50 میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد، سپس برای تهیه محیط کشت، مخلوط بزاق مصنوعی با 330 میلی‌لیتر مایع شکمبه صاف‌شده مخلوط شد (نسبت 3 به 1). 40 میلی‌لیتر از محیط کشت (مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی) به داخل هر بطری حاوی نمونه خوراک و بطری‌های خالی (بلانک) از قبل آماده‌شده ریخته شد. بطری‌ها بلافاصله به داخل بن‌ماری شیکردار با دمای 39 درجه سانتی‌گراد منتقل

شدند. برای آزمون تولید گاز 24 ساعت، فشار گاز درون بطری‌ها در فواصل زمانی 2، 4، 8، 16، 20 و 24 ساعت و برای آزمون تولید گاز 96 ساعت در فواصل زمانی 2، 4، 6، 8، 10، 12، 14، 16، 24، 30، 36، 48، 54، 72 و 96 ساعت پس از انکوباسیون توسط دستگاه فشارسنج (مدل TESTO 512) ثبت شد (بلومل و همکاران 1999).

اندازه‌گیری حجم تولید گاز خالص

بعد از این که حجم گاز تولیدشده بطری‌ها در فواصل زمانی مختلف انکوباسیون تا پایان زمان 24 یا 96 ساعت ثبت شد، تولید گاز هر بطری در زمان‌های مختلف با هم جمع شد و میانگین تکرارهای هر تیمار تعیین شد و سپس از میانگین تولید گاز بطری‌های بلانک کسر شد تا تولید گاز خالص برای هر زمان به‌دست آید (ماکار، 2010).

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

تجزیه‌پذیری ماده خشک

با پایان زمان آزمایش اندازه‌گیری تولید گاز (24 ساعت) و ثبت میزان گاز و خالی کردن گاز، بطری‌های شیشه‌ای برای خنک شدن به یخچال با دمای 3 تا 5 درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. برای محتویات هر بطری، یک کروسیبل خالی در نظر گرفته شد. کروسیبل‌ها را پس از شستشو در آون با دمای 105 درجه سانتی‌گراد خشک، در دسیکاتور، خنک و سپس وزن خالی آن‌ها ثبت شد. کروسیبل‌ها بر روی یک ارلن خالص مجهز به پمپ خالص قرار گرفت و بعد از باز کردن درب هر بطری، محتویات هر بطری به طور کامل به داخل کروسیبل مربوطه تخلیه شد تا صاف (فیلتر) شود. کروسیبل‌ها در آون با دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 16 تا 24 ساعت خشک و وزن آن‌ها ثبت شد. در ادامه آزمایش، کروسیبل‌ها به دستگاه اندازه‌گیری لیاف خام، منتقل و باقیمانده نمونه داخل کروسیبل به مدت 1 ساعت در محلول شوینده خنثی جوشاننده شد (100 میلی‌لیتر محلول شوینده خنثی به ازاء هر نمونه) تا باقیمانده نمونه از آلودگی میکروبی پاک شود و فقط ماده خشک یا ماده آلی خوراک تجزیه‌نشده باقی بماند. پس از پایان این مرحله، باقیمانده نمونه داخل

اندازه‌گیری فاکتور تفکیک شوندگی

فاکتور تفکیک شوندگی با توجه به مقدار ماده آلی تجزیه شده (میلی‌گرم) و حجم گاز خالص ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر) با استفاده از رابطه ۲ محاسبه شد:

رابطه ۲:

$$\text{فاکتور تفکیک} = \frac{\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی‌گرم)}}{\text{حجم گاز خالص (میلی‌لیتر)}}$$

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

تخمین راندمان تولید توده میکروبی

راندمان تولید توده میکروبی بعد از پایان زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت (۵۰۰ میلی‌گرم نمونه خشک در ۴۰ میلی‌لیتر محیط کشت) با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد (بلومل و همکاران، ۱۹۹۷):

رابطه ۳:

$$= (\%) \text{ راندمان تولید توده میکروبی} \\ = \frac{[24/24] \times 100}{\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی‌گرم)}} \times \frac{\text{تولید خالص گاز (میلی‌لیتر)} - [\text{ماده آلی تجزیه‌شده (میلی‌گرم)}]}{100}$$

۲/۳۴: فاکتور استوکیومتری برای جیره‌های مخلوط و کنسانتره‌ها عدد ۲/۳۴ و علوفه‌ها عدد ۲/۲ می‌باشد.

اندازه‌گیری متان

بعد از پایان انکوباسیون ۲۴ ساعت نمونه در مایع شکمبه و بافر فسفات، تولید گاز نهایی (پایان ۲۴ ساعت) ثبت شد. سپس محلول هیدروکسید سدیم ۱۰ مولار به محتویات بطری‌ها اضافه شد تا گاز دی‌اکسید کربن را جذب کند. بعد از جذب گاز دی‌اکسید کربن (بعد از حدود ۱۰ دقیقه)، گاز باقیمانده در بطری شیشه‌ای، معادل گاز متان در نظر گرفته شد (فیوز و همکاران ۲۰۰۵):

رابطه ۴:

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

تولید گاز متان بلانک - تولید گاز متان نمونه = تولید گاز

متان خالص (میلی‌لیتر)

اندازه‌گیری پارامترهای مربوط به تولید گاز ۹۶ ساعت

کروسیبیل توسط آب مقطر داغ شسته شد، سپس کروسیبیل‌ها از دستگاه خارج شدند و وزن آن‌ها پس از خشک کردن در آون (۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت) و خنک کردن در دسیکاتور ثبت شد. اختلاف وزن کروسیبیل پس از آون و کروسیبیل خالی به‌عنوان ماده خشک تجزیه نشده (a) در نظر گرفته شد. درصد تجزیه‌پذیری ماده خشک به صورت زیر محاسبه شد (ماکار، ۲۰۱۰):

(%) تجزیه‌پذیری ماده خشک

$$= \frac{\text{ماده خشک تجزیه‌نشده (میلی‌گرم)} - \text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم)}}{\text{ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم)}} \times 100$$

۱۰۰۰ × [وزن کروسیبیل خالی (گرم) - وزن کروسیبیل حاوی باقیمانده (گرم)] = ماده خشک تجزیه‌نشده (میلی‌گرم)
۵۰۰ میلی‌گرم × (۱۰۰ ÷ درصد ماده خشک نمونه خوراک) = ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم)

برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری ماده آلی، پس از پایان مرحله آون‌گذاری و توزین کروسیبیل‌ها، کروسیبیل‌ها در داخل کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت خاکستری شدند. پس از انتقال به درون دسیکاتور، وزن آن‌ها ثبت و از وزن کروسیبیل خالی کم شد تا مقدار خاکستر (b) به دست آید. سپس مقدار ماده خشک تجزیه‌نشده (a) از مقدار خاکستر (b) 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 (ماکار، ۲۰۱۰):

رابطه ۱:

ماده خشک ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم) × (۱۰۰ ÷ درصد ماده آلی نمونه خوراک) = ماده آلی ریخته‌شده در بطری (c) (میلی‌گرم)
c - (a - b) = ماده آلی تجزیه‌شده (میلی‌گرم)

(a - b) = ماده آلی تجزیه‌نشده

(%) تجزیه‌پذیری ماده آلی

$$= \frac{\text{ماده آلی تجزیه‌نشده (میلی‌گرم)} - \text{ماده آلی ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم)}}{\text{ماده آلی ریخته‌شده در بطری (میلی‌گرم)}} \times 100$$

زمان به طور معنی‌داری بر محتوای لیاف شوینده خنثی باگاس اثر داشت، به طوری که تیمار ۲ و ۴، کمترین میزان لیاف شوینده خنثی را داشتند ($P < 0.05$).

عمل‌آوری علوفه با مواد شیمیایی قلیایی مانند هیدروکسید کلسیم سبب حذف دیواره سلولی گیاه می‌شود (جیانگ و همکاران ۲۰۱۷) که این می‌تواند دلیل کاهش میزان ماده خشک باگاس عمل‌آوری‌شده در مقایسه با باگاس عمل‌آوری‌نشده در مطالعه حاضر باشد که با نتایج سایر مطالعات مطابقت داشت (برگر و همکاران ۱۹۹۰). همچنین، ریبرو و همکاران (۲۰۲۰)، گزارش کردند که عمل‌آوری کاه جو و کاه برنج با محلول اوره باعث کاهش میزان ماده خشک آن‌ها شد. گزارش شده که عمل‌آوری قلیایی کاه گندم باعث افزایش هیدرولیز بخش لیگنوسلولزی و کاهش میزان ماده آلی شد (ژانگ و همکاران ۲۰۲۰). از نظر شیمیایی، عمل‌آوری علوفه با مواد شیمیایی قلیایی باعث شکستن پیوندهای استری بین همی‌سلولز و لیگنین و افزایش تخلخل سطح داخلی دیواره سلولی می‌شود (جیانگ و همکاران ۲۰۱۷). از نظر فیزیکی، با انجام عمل‌آوری، استحکام بخش لیافی از بین رفته و با تغییر ترتیب لیاف، آن‌ها را در معرض تخریب و بنابراین کاهش محتوای ماده خشک یا ماده آلی قرار می‌دهد (شتی و همکاران ۲۰۱۷). در مطالعه حامد و همکاران (۲۰۱۲)، میزان پروتئین خام باگاس نیشکر با افزایش سطح عمل‌آوری با اوره (۲، ۴ یا ۶ درصد) افزایش یافت که مطابق با نتایج آزمایش حاضر بود که با افزایش سطح اوره (۰، ۳ یا ۴ درصد) محتوای پروتئین خام باگاس افزایش یافت. گونن و همکاران (۲۰۱۶) گزارش کردند که میزان پروتئین خام باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۲ درصد اوره+محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد در مقایسه با باگاس عمل‌آوری‌نشده بیشتر بود. علاوه بر این، باگاس نیشکر عمل‌آوری‌نشده میزان لیاف شوینده خنثی، لیاف شوینده اسیدی و لیگنین بالاتری در مقایسه با باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۴ درصد و باگاس

پارامترهای پتانسیل تولید گاز (A)، نرخ تولید گاز (C) و زمان تأخیر (Lag time) مربوط به ۹۶ ساعت با استفاده از نرم‌افزار SAS ورژن ۲۰۰۶ و بر اساس روش مکدونالد (۱۹۸۱) محاسبه شدند.

طرح آزمایشی و آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها به صورت فاکتوریل 2×3 در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ (ترکیبات شیمیایی) یا ۶ تکرار (فراسنجه‌های تخمیر شکمبه) با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS ورژن ۲۰۰۶ انجام شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + T_j + (P \times T)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

در این مدل: Y_{ijk} : مقدار هر صفت اندازه‌گیری‌شده، μ : میانگین جمعیت برای صفت موردنظر، P_i : اثر روش عمل‌آوری، T_j : اثر زمان عمل‌آوری، $(P \times T)_{ij}$: اثر متقابل روش عمل‌آوری در زمان عمل‌آوری و ε_{ijk} : اثر خطای آزمایشی است. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش توکی و در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ترکیب شیمیایی باگاس

اثر روش‌های مختلف و مدت زمان عمل‌آوری بر ترکیب شیمیایی باگاس در جدول ۳ آمده است. زمان عمل‌آوری بر ماده خشک باگاس از لحاظ آماری تأثیری نداشت ($P > 0.05$). تیمار ۴ دارای بالاترین و تیمار ۳ و ۶ پایین‌ترین میزان ماده خشک را داشتند ($P < 0.05$). تیمار ۱ و ۲ به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان ماده آلی بودند ($P < 0.05$). پروتئین خام باگاس از لحاظ آماری تحت تأثیر زمان عمل‌آوری و اثرات متقابل زمان و نوع عمل‌آوری قرار نگرفت ($P > 0.05$), اما باگاس عمل‌آوری‌شده با مواد شیمیایی (تیمارهای ۲، ۳، ۵ و ۶) در مقایسه با باگاس عمل‌آوری‌نشده (تیمارهای ۱ و ۴)، میزان پروتئین خام بیشتری داشتند ($P < 0.05$). زمان عمل‌آوری بر محتوای لیاف شوینده خنثی باگاس به لحاظ آماری اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$), اما نوع عمل‌آوری و اثر متقابل آن با

در جدول ۴ آمده است. زمان عمل‌آوری بر تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت اثر معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$)، اما نوع عمل‌آوری، تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت را تحت تأثیر قرار داد، به طوری که عمل‌آوری باگاس نیشکر با اوره و هیدروکسید کلسیم سبب افزایش تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت جیره‌های آزمایشی شد و جیره‌های شاهد (تیمارهای ۱ و ۴) دارای کمترین مقدار تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت بودند ($P < 0.05$). اثر نوع عمل‌آوری، زمان عمل‌آوری و اثر متقابل آن‌ها بر تولید گاز متان، فاکتور تفکیک شونده‌گی و بازده تولید توده میکروبی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). اثر زمان عمل‌آوری و اثر متقابل زمان و نوع عمل‌آوری بر قابلیت هضم ماده خشک جیره‌های آزمایشی معنی‌دار نبود ($P > 0.05$)، اما نوع عمل‌آوری بر قابلیت هضم ماده خشک جیره‌های آزمایشی اثر معنی‌دار داشت به طوری که تیمار ۶ بیشترین میزان قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی را داشت ($P < 0.05$).

عوامل مختلفی مانند سطح علوفه جیره یا نسبت کنسانتره به علوفه، کیفیت جیره و ... بر میزان تولید متان در شکمبه تأثیرگذار هستند. هر چند در این مطالعه تولید گاز متان تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت، اما در مطالعه سامبوستینی و همکاران (۲۰۱۳)، اثر بخشی مواد قلیایی در بهبود تخریب‌پذیری ماده خشک و کاهش تولید متان گزارش شد (سامبوستینی و همکاران ۲۰۱۳). دلیل عدم تغییر میزان گاز متان در آزمایش حاضر را می‌توان به نسبت یکسان علوفه به کنسانتره در بین تمام جیره‌های آزمایشی ارتباط داد (ون سوست ۱۹۹۴). قابلیت هضم یک خوراک ارتباط نزدیکی با ترکیب شیمیایی آن خوراک دارد (مک‌دونالد و همکاران ۲۰۲۲). گونن و همکاران (۲۰۱۶)، گزارش کردند که گاوهای تغذیه‌شده با جیره حاوی باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۲ درصد + محلول هیدروکسید کلسیم ۲ درصد در مقایسه با گاوهای تغذیه‌شده با جیره شاهد، مصرف خوراک و قابلیت هضم ظاهری ماده خشک و ماده آلی بالاتری داشتند (گونن و همکاران ۲۰۱۶). در مطالعه حاضر، عمل‌آوری باگاس با

نیشکر عمل‌آوری‌شده با محلول اوره ۲ درصد و هیدروکسید کلسیم ۲ درصد داشت (گونن و همکاران ۲۰۱۶). در آزمایش حاضر، افزایش پروتئین خام باگاس عمل‌آوری‌شده با محلول اوره را می‌توان به وجود عنصر نیتروژن در ساختمان اوره ارتباط داد. واناپات و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که عمل‌آوری کاه برنج با محلول اوره و هیدروکسید کلسیم باعث کاهش محتوای لیاف شوینده خنثی شد (واناپات و همکاران ۲۰۰۹). در یک پژوهش، استفاده از ۱۵ درصد هیدروکسید سدیم به‌عنوان پیش‌عمل‌آوری قلیایی، مقدار لیگنین و همی‌سلولز را در بقایای پالم به ترتیب به میزان $74/61$ و $61/54$ درصد کاهش داد (بارلیناتی و همکاران ۲۰۱۵). مشابه با نتایج آزمایش حاضر، عمل‌آوری بقایای ماش با پراکسید هیدروژن باعث کاهش مقدار لیاف خام آن شد که دلیل آن احتمالاً حذف بخش عمده لیگنین و مقادیر کمی از همی‌سلولز طی عمل‌آوری شیمیایی بود (بابایی و همکاران ۲۰۱۶). رزنده و همکاران ۲۰۱۱ گزارش کردند که حذف لیگنین در اثر تماس با مواد شیمیایی قلیایی منجر به از بین رفتن ساختار دیواره سلولی نیشکر می‌شود (رزنده و همکاران ۲۰۱۱). این می‌تواند میزان لیاف شوینده خنثی کمتر باگاس نیشکر عمل‌آوری‌شده با اوره و هیدروکسید کلسیم در مقایسه با باگاس نیشکر عمل‌آوری‌نشده در مطالعه حاضر را توضیح دهد. دمای بالا و شرایط قلیایی باعث ایجاد شکاف در لیگنین و ایجاد پیوندهای دیگر بین واحدهای فنیل پروپانول گروه‌های فنلی آزاد می‌شود. در نتیجه کاهش وزن مولکولی و شکاف پیوندها، حلالیت لیگنین در محلول قلیایی افزایش می‌یابد (تندر و همکاران ۱۹۸۴). کاهش مقدار لیاف شوینده خنثی و لیاف شوینده اسیدی می‌تواند به دلیل از دست رفتن ترکیبات قابل‌حل مواد خشبی عمل‌آوری‌شده با مواد شیمیایی قلیایی باشد (سلطانی ناصری و همکاران ۲۰۱۸).

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های آزمایشی

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای جیره‌های حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با روش‌های مختلف در زمان‌های متفاوت

می‌تواند در افزایش قابلیت هضم باگاس نقش داشته باشد (عالم‌زاده و همکاران ۲۰۰۱).

مواد شیمیایی قلیایی از طریق حذف لیگنین از قسمت‌های داخلی دیواره سلولی و تخریب دیواره سلولی، باعث افزایش دسترسی میکروارگانسیم‌های شکمبه به لایه‌های زیرین لیگنین (سلولز و همی‌سلولز) (کاروالیو و همکاران ۲۰۱۳ و وانپارت و همکاران ۲۰۰۹) و بنابراین افزایش تجزیه‌پذیری و قابلیت هضم باگاس شد. در واقع، مواد قلیایی از طریق شکسته شدن پیوندهای بین لیگنین و کربوهیدرات‌های دیواره سلولی باعث افزایش قابلیت استفاده از آن‌ها را برای باکتری‌های هضم‌کننده الیاف و بنابراین افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی می‌شود (یالچی و همکاران ۲۰۱۲). همسو با نتایج این مطالعه، عمل‌آوری بقایای نخود زراعی با هیدروکسید سدیم و پراکسید هیدروژن باعث افزایش قابلیت هضم برون‌تنی ماده خشک و ماده آلی شد (سلطانی ناصری و همکاران ۲۰۱۸). تکنیک‌هایی مانند تولید گاز به طور غیرمستقیم وضعیت کلی تخمیر را نشان می‌دهند. مقدار گاز تولیدی وابسته به ترکیبات شیمیایی آن ماده غذایی می‌باشد. محققان گزارش کرده‌اند که بین الیاف شوینده خنثی و اسیدی و نرخ و حجم گاز تولیدی همبستگی منفی وجود دارد (سومارت ۲۰۰۰). منابع خوراکی با الیاف شوینده خنثی و اسیدی بالا، دارای پتانسیل تولید گاز کمتری هستند. با افزایش الیاف شوینده خنثی و اسیدی، مقدار کربوهیدرات‌های قابل‌حل کاهش یافته در نتیجه قابلیت هضم، تخمیر و تولید گاز نیز کاهش می‌یابد (سلیم و همکاران ۲۰۰۴). بنابراین، افزایش تولید گاز تجمعی ۲۴ ساعت و افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در آزمایش حاضر را می‌توان به کاهش محتوای الیاف شوینده خنثی در باگاس عمل‌آوری‌شده در مقایسه با باگاس عمل‌آوری‌نشده (جدول ۳) ارتباط داد. از طرفی، به دلیل وجود عنصر نیتروژن در ساختار اوره، اوره با تأمین نیتروژن لازم برای رشد میکروارگانسیم‌های شکمبه (تولید پروتئین میکروبی)، باعث افزایش توانایی میکروارگانسیم‌های شکمبه برای هضم خوراک می‌شود که احتمالاً عمل‌آوری باگاس با محلول اوره از این طریق نیز

Table 3- Chemical composition of sugarcane bagasse processed by different methods[®] at different times

Chemical composition (%)	30 days processing time			45 days processing time			SEM	Time	Processing	P-value	Time × Processing
	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4	Treatment 5	Treatment 6					
Dry matter	95.02 ^b	94.38 ^{bc}	92.02 ^d	96.50 ^a	93.50 ^{bc}	92.01 ^d	0.33	0.48	0.01	0.01	
Organic matter	93.86 ^a	91.71 ^c	87.92 ^e	92.89 ^b	89.45 ^d	85.16 ^f	0.18	0.01	0.01	0.01	
Crude protein	2.67 ^b	8.42 ^a	8.24 ^a	2.72 ^b	8.33 ^a	8.27 ^a	0.12	0.95	0.01	0.03	
Neutral detergent fiber	90.86 ^a	87.06 ^d	89.55 ^{ab}	90.62 ^a	88.11 ^{cd}	88.85 ^{bc}	0.41	0.91	0.01	0.03	

[®] Treatment 1: Unprocessed bagasse, stored for 30 days processing time, Treatment 2: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 3: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 4: Unprocessed bagasse, stored for 45 days processing time, Treatment 5: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time and Treatment 6: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time.

Table 4- Ruminal fermentation parameters of diets containing bagasse processed by different methods[®] at different times

ParameterS	30 days processing time			45 days processing time			SEM	Time	Processing	P-value	Time × Processing
	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4	Treatment 5	Treatment 6					
24-hour cumulative gas production ¹	50.47 ^b	58.50 ^a	59.81 ^a	52.63 ^b	59.73 ^a	60.05 ^a	1.40	0.31	0.01	0.04	
Methane gas production ²	8.34	8.61	8.56	8.85	8.78	8.51	0.87	0.76	0.98	0.94	
Partitioning factor	4.68	4.48	4.43	4.45	4.25	4.52	0.18	0.40	0.57	0.61	
Microbial mass production efficiency	55.47	52.01	52.61	52.28	51.30	52.61	1.90	0.41	0.52	0.69	
Dry matter digestibility	50.61	52.82	55.32	51.38	53.54	55.67	1.42	0.60	0.02	0.98	
True organic matter digestibility	51.04 ^b	54.36 ^{ab}	56.60 ^a	51.91 ^b	54.52 ^{ab}	58.32 ^a	1.31	0.41	0.02	0.04	

[®] Treatment 1: Unprocessed bagasse, stored for 30 days processing time, Treatment 2: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 3: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 4: Unprocessed bagasse, stored for 45 days processing time, Treatment 5: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time and Treatment 6: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time.

1- (ml/500 mg DM).

2- (ml/500 mg DM).

پارامترهای تولید گاز جیره‌های آزمایشی

پارامترهای تولید گاز جیره‌های حاوی باگاس عمل‌آوری‌شده با روش‌های مختلف در زمان‌های متفاوت در جدول ۵ و شکل ۱ آمده است. تولید گاز جمعی ۹۶ ساعت تحت تأثیر زمان عمل‌آوری قرار نگرفت ($P > 0/05$)، اما نوع عمل‌آوری بر تولید گاز جمعی ۹۶ ساعت اثر معنی‌دار داشت، به طوری که تیمار ۳ و ۶ در مقایسه با سایر تیمارها، تولید گاز جمعی بیشتری داشتند ($P < 0/05$). اثر زمان عمل‌آوری، نوع عمل‌آوری و اثر متقابل آن‌ها بر پتانسیل تولید گاز معنی‌دار بود ($P < 0/05$). کمترین و بیشترین مقدار پتانسیل تولید گاز به ترتیب مربوط به تیمار ۱ و تیمار ۶ بود ($P < 0/05$). زمان عمل‌آوری باگاس بر زمان تأخیر اثر معنی‌دار نداشت ($P > 0/05$)، اما نوع عمل‌آوری تأثیرگذار بود به طوری که تیمار ۱ و ۴، بیشترین و تیمار ۳ و ۶، کمترین زمان تأخیر را داشتند ($P < 0/05$).

با توجه به نتایج به دست آمده در آزمایش حاضر، عمل‌آوری با هیدروکسید کلسیم تولید گاز جمعی را طی یک دوره تخمیر ۹۶ ساعت افزایش داد. اوره و هیدروکسید کلسیم با افزایش میزان تجزیه‌پذیری و تسهیل دسترسی ماده آلی برای حمله آنزیم‌های میکروبی و همچنین بهبود قابلیت هضم خوراک، تولید گاز جمعی ۹۶ ساعت و پتانسیل تولید گاز را افزایش دادند. مطابق با نتایج مطالعه حاضر، در اثر عمل‌آوری کاه جو با اوره در مقایسه با عدم عمل‌آوری آن، تولید گاز جمعی ۹۶ ساعت به طور معنی‌داری افزایش یافت (مانچینی و همکاران ۱۹۹۲). عواملی نظیر محتوای کربوهیدرات، ترکیب الیاف و سایر اجزای قابل تخمیر، پتانسیل تولید گاز را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این ترکیبات به دلیل تفاوت در قابلیت تخمیر، پتانسیل تولید گاز متفاوتی دارند (سلام و همکاران ۲۰۰۷). در مطالعه حاضر، عمل‌آوری باگاس با محلول اوره و هیدروکسید کلسیم باعث افزایش میزان تخمیر و تولید گاز بالاتری نسبت به جیره‌های شاهد شد. زمان تأخیر نشان‌دهنده زمان مورد نیاز برای شروع تخمیر توسط جمعیت میکروبی در شکمبه است. کمتر بودن این زمان

نشان‌دهنده عمل‌آوری بهتر منابع علوفه‌ای، شروع سریع‌تر تخمیر و در دسترس بودن مواد مغذی برای رشد میکروارگانیزم است (سahنون و همکاران ۱۹۹۱). در مطالعه حاضر، عمل‌آوری‌های شیمیایی در مقایسه با عدم عمل‌آوری باعث کاهش زمان تأخیر شدند که بیانگر مطلوب بودن عمل‌آوری‌ها می‌باشد. در مطالعه دهقانی و همکاران در سال ۲۰۲۱ عمل‌آوری کاه گندم و باگاس نیشکر با محلول اوره ۵ درصد باعث کاهش زمان تأخیر کاه گندم شد (دهقانی و همکاران ۲۰۲۱). در مطالعه حاضر عمل‌آوری باگاس نیشکر با اوره و هیدروکسید کلسیم احتمالاً با شکستن ساختارهای پیچیده الیاف، سبب سهولت تخمیر خوراک شده است که می‌تواند دلیل کاهش زمان تأخیر و به دنبال آن، بهبود فراسنجه‌های تخمیر باشد.

Table 5- Gas production parameters of diets containing bagasse processed by different methods[®] at different times

Parameters	30 days processing time			45 days processing time			SEM	P-value		
	Treatment 1	Treatment 2	Treatment 3	Treatment 4	Treatment 5	Treatment 6		Time	Processing	Time × Processing
96-hour cumulative gas production ¹	54.37 ^c	58.89 ^b	66.27 ^a	55.92 ^{bc}	58.67 ^b	69.14 ^a	0.95	0.09	0.01	0.03
A (Potential gas production) ²	3.89 ^d	4.23 ^c	4.62 ^b	4.13 ^{cd}	4.24 ^c	4.87 ^a	0.07	0.02	0.01	0.04
C (Gas production rate; ml/h)	0.22	0.19	0.22	0.18	0.18	0.20	0.01	0.07	0.34	0.69
Lag time (h)	0.89 ^a	0.35 ^b	0 ^c	0.65 ^a	0.17 ^{bc}	0 ^c	0.09	0.09	0.01	0.03

[®] Treatment 1: Unprocessed bagasse, stored for 30 days processing time, Treatment 2: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 3: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 30 days processing time, Treatment 4: Unprocessed bagasse, stored for 45 days processing time, Treatment 5: Bagasse processed with 4% urea solution and 1% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time and Treatment 6: Bagasse processed with 3% urea solution and 2% calcium hydroxide solution, stored for 45 days processing time.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این آزمایش نشان داد که عمل‌آوری باگاس با محلول اوره یا هیدروکسید کلسیم باعث افزایش تولید گاز و قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی شد. مدت زمان عمل‌آوری از ۳۰ روز به ۴۵ روز تأثیری بر

قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی نداشت. عمل‌آوری باگاس با محلول اوره ۳ درصد و هیدروکسید کلسیم ۲ درصد و ذخیره‌شده به مدت ۳۰ روز (تیمار ۳)، بهترین روش عمل‌آوری برای باگاس بود.

منابع مورد استفاده

- Ahmed M H, Babiker S A, Fadel Elseed A E M A and Mohammed A M, 2013. Effect of urea-treatment on nutritive value of sugarcane bagasse. *ARPN Journal of Science and Technology* 3(8): 834-838.
- Alemzadeh B, Noroozi S and Kardooni A, 2001. Determination of nutritive value and apparent digestibility in Bagasse and treated Bagasse. *Pajouhesh and Sazandegi* 53: 14-17. (In Persian)
- AOAC, 2007. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlin, VA, USA, 1230 pp.
- Babaei M, Ghanbari F, Ashour Mohammad Q and Bayat Kohsar J, 2016. Effects of electron beam, hydrogen peroxide and hydrobromic acid treatment on the nutritional value of mung bean residues. *Iranian Animal Science Research* 8(3): 441-454. (In Persian).
- Balgees A, Elmnan A, Elseed A F and Salih A M, 2007. Effect of ammonia and urea treatments on the chemical composition and rumen degradability of bagasse. *The Journal of Applied Sciences Research* 3: 1359-1362.
- Balgees A, Elmnan A, Hemeedan A A and Ahmed R I, 2015. Influence of different treatments on nutritive values of sugarcane bagasse. *Global Journl of Animal Science Reserch* 2(3): 295-231.
- Barlianti V, Dahnum D, Hendarsyah H and Abimanyu H, 2015. Effect of alkaline pretreatment on properties of lignocellulosic oil palm waste. *Procedia Chemistry* 16: 195-201.
- Berger L L, Klopfenstein T J and Britton R A, 1990. Britton. Factors causing greater in vitro than in vivo digestibility of sodium hydroxide treated roughages. *Animal Feed Science Technology* 29: 73-87.
- Blümmel M, Aiple K P., Steingäß H and Becker K, 1999. A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas formation in vitro in feedstuffs of widely differing quality. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 81(3): 157-167.
- Blummel M, Makkar P S and Becker K, 1997. In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of. Animal Physiology and Animal Nutrition* 77: 24-34.
- Carvalho G G P D, Garcia R, Pires A J V, Silva R R, Detmann E, Eustaquio Filho A and Carvalho L M, 2013. Diets based on sugar cane treated with calcium oxide for lambs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 26(2): 218-226.
- Castañón-Rodríguez J F, Welti-Chanes J, Palacios A J, Torrestiana-Sanchez B, Ramírez de León J A, Velázquez G, and Aguilar-Uscanga M G, 2015. Influence of high pressure processing and alkaline treatment on sugarcane bagasse hydrolysis. *CyTA-Journal of Food* 13(4): 613-620.
- Costa S M, Mazzola P G, Silva J C, Pahl R, Pessoa Jr A and Costa S A, 2013. Use of sugar cane straw as a source of cellulose for textile fiber production. *Industrial Crops and Products* 42: 189-194.
- Dehghani M, Afzalzadeh A and Norouzian M A, 2021. The study of chemical composition and ruminal degradability parameters of urea treatment of wheat straw and sugarcane bagasse. *Animal Production* 23(2): 191-200. (In Persian).
- Gunun N, Wanapat M, Gunun P, Cherdthong A, Khejornsart P and 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.

- Hameed A A, Salih M A and El-Seed F, 2012. Effect of urea treatment on the chemical composition and rumen degradability of groundnut hull. *Pakistan Journal of Nutrition* 11: 1146-1151.
- Jiang D, Ge X, Zhang Q, Zhou X, Chen Z, Keener H, and Li Y, 2017. Comparison of sodium hydroxide and calcium hydroxide pretreatments of giant reed for enhanced enzymatic digestibility and methane production. *Bioresource Technology* 244: 1150-1157.
- Khawar A, Khan N, Iqbal K J, Fatima M, Rasool F, Anjum K M and Asghar M, 2024. Effect of Urea Treated Sugarcane Bagasse on Growth, Proximate Composition, Microbial Flora and Digestive Enzymes Activities of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Pakistan Journal of Zoology* 56(5): 2369.
- Kraiprom T, Jantarat S, Yaemkong S, Cherdthong A and Incharoen T, 2022. Feeding Thai native sheep molasses either alone or in combination with urea-fermented sugarcane bagasse: the effects on nutrient digestibility, rumen fermentation, and hematological parameters. *Veterinary Sciences* 9(8): 415.
- Madadi M, Nazar M, Shah S W A, Li N, Imtiaz M, Zhong Z, and 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.
- Manyuchi B, Ørskov E R and 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.
- McDonald P, Edwards R, Greenhalgh J F D, Morgan C, Sinclair L A and Wilkinson R G, 2022. *Animal Nutrition*. Eighth edition, Pearson.
- Menke K H and 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.
- NRC, 2007. Nutrient requirements of small ruminants: sheep, goats, cervids and new camelids.
- Nogueira N D, Narciso C R P, Felix A D L and Mendes R F, 2022. Pressing temperature effect on the properties of medium density particleboard made with sugarcane bagasse and plastic bags. *Materials Research* 25: e20210491.
- Pipitpukdee S, Attavanich W and Bejranonda S, 2020. Climate change impacts on sugarcane production in Thailand. *Atmosphere* 11(4): 1-15.
- Rezaii F, Bayatkouhsar J, Ghanbari F, and Arab F, 2023. The effect of water, urea, sodium hydroxide, and hydrogen peroxide processing on the cumin residues animal digestibility. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture* 12(4): 525-537.
- Rezende C A, De Lima M A, Maziero P, deAzevedo E R, Garcia W and Polikarpov I, 2011. Chemical and morphological characterization of sugarcane bagasse submitted to a delignification process for enhanced enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels* 4: 1-19.
- Ribeiro G O, Gruninger R J, Jones D R, Beauchemin K A, Yang W Z, Wang Y and 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): 1-19.
- Sahnoune S, Besle J M, Chenost M, Jouany J P and 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.
- Sallam S M A, Nasser M E A, El-Waziry A M, Bueno I C D S and Abdalla A L, 2007. Use of an in vitro rumen gas production technique to evaluate some ruminant feedstuffs. *Journal of Applied Science. Research* 3(1): 34-41.
- Sambusiti C, Monlau F, Ficara E, Carrère H and Malpei F, 2013. A comparison of different pre-treatments to increase methane production from two agricultural substrates. *Applied Energy* 104: 62-70.
- SAS, 2006. *Procedures Guide*, second ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

- Selim A S M, Pan J, Takano T, Suzuki T, Koike S, Kobayashi Y and Tanaka K, 2004. Effect of ammonia treatment on physical strength of rice straw, distribution of straw particles and particle-associated bacteria in sheep rumen. *Animal Feed Science and Technology* 115(1-2): 117-128.
- Shetty D J, Kshirsagar P, Tapadia-Maheshwari S, Lanjekar V, Singh S K and Dhakephalkar P K, 2017. Alkali pretreatment at ambient temperature: A promising method to enhance biomethanation of rice straw. *Bioresource Technology* 226: 80-88.
- So S, Cherdthong A and Wanapat M, 2022. Growth performances, nutrient digestibility, ruminal fermentation and energy partition of Thai native steers fed exclusive rice straw and fermented sugarcane bagasse with *Lactobacillus*, cellulase and molasses. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 106(1): 45-54.
- Soltani Naseri K, Ghanbari F, Bayat Kouhsar J and Taliey F, 2018. Effect of chemical and biological processing methods on chemical composition, gas production parameters and in vitro digestibility of cicer Arietinum wastes. *Research on Animal Production* 9(22): 72-82.
- Sommart K, Parker D S, Rowlinson P and Wanapat M, 2000. Fermentation characteristics and microbial protein synthesis in an in vitro system using cassava, rice straw and dried ruzi grass as substrates. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 13(8): 1084-1093.
- Theander O, Aman p, Sundstol F and Owen E, 1984. *Straw and other by-products as feed*. Elsevier, Amsterdam 45.
- Van Soest P J, 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*, second ed. Cornell University Press, Ithaca, NY.
- Van Soest P J, Robertson J B and Lewis B A, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74(10): 3583-3597.
- Wanapat M, Polyorach S, Boonnop K, Mapato C and Cherdthong A, 2009. Effects of treating rice straw with urea or urea and calcium hydroxide upon intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield of dairy cows. *Livestock Science* 125: 238-243.
- Yalchi T, Kargar S, Khorvash M and Ghorbani G R, 2012. Effect of sodium hydroxide on chemical compositions and in vitro digestibility of soybean straw. In 3th Iranian Animal Science Congresspp. 1069-1073.
- Zhang J, Kong C, Yang M and Zang L, 2020. Comparison of calcium oxide and calcium peroxide pretreatments of wheat straw for improving biohydrogen production. *ACS Omega* 5(16): 9151-9161.