مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۱ شماره ۱/ سال ۱۴۰۰/ صفحات ۱۱ تا ۲۶

DOI: 10.22034/as.2021.33043.1494

تأثیر کاهش میزان سموم پاتولین و دیازینون موجود در تفاله سیب سیلو شده بر روی برخی فراسنجه های شکمبه ای (pH، پروتوزوآ، نیتروژن آمونیاکی) و غلظت اسیدهای چرب فرار در بزهای شیرده مهابادی

احد گل قاسم قره باغ[1*]، رسول پیرمحمدی[2]، حامد خلیل‌وندی بهروزیار[2] و احد بیگدلی خواجه دیزجی[3]

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۱/۸

[1] استادیار گروه علوم کشاورزی دانشگاه پیام نور ارومیه

[2] به‌ترتیب استاد و استادیارگروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

[3] مدرس گروه علوم کشاورزی دانشگاه پیام نور ارومیه

[*]مسئول مکاتبه: Email: A_GH_gharebagh@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: میزان بقایای برخی سموم و آفت‌کش‌ها در برخی خوراک‌های دام و طیور در ایران به نظر بیشتر از حد مجاز و استاندارد جهانی است. **هدف:** این پژوهش به‌منظور تأثیر کاهش میزان سموم پاتولین و دیازینون موجود در تفاله سیب سیلو شده بر روی برخی فراسنجه های شکمبه‌ای (pH، پروتوزوآ، نیتروژن آمونیاکی) و غلظت اسیدهای چرب فرار در بزهای شیرده مهابادی مصرف‌کننده جیره‌های حاوی مقادیر بالای تفاله سیب انجام گرفت. **روش کار:** در این مطالعه از ۳۰ رأس بز شیرده نژاد مهابادی بالغ تازه‌زا با میانگین وزن زنده ۵ ± ۵۵ کیلوگرم با ۵ تیمار آزمایشی و ٦ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. **نتایج:** نتایج نشان داد که بیشترین میزان سم پاتولین و دیازینون موجود در تیمارهای مختلف مربوط به گروه شاهد (۱۷۸ میکروگرم در کیلوگرم و ۰/۹۳٦ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کمترین میزان به ترتیب مربوط به تیمارهای فرآوری شده با توکسین بایندر Bio-Tox و Mycofix-Plus (۵۸ میکروگرم در کیلوگرم و ۰/۲۷۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) بود. همچنین نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار غلظت اسیدهای چرب فرار کل، به‌غیراز تیمار ٤ نسبت به تیمار شاهد می‌باشد (P<۰/۰۵). نتایج مربوط به pH نیز نشان داد که فقط pH تیمار ۵ به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش‌یافته و به ٦/۳٦ در مقایسه با ٦/٤۲ تیمار شاهد رسیده و دارای اختلاف است. همچنین جمعیت پروتوزوآیی شکمبه تحت تأثیر فرآوری تفاله سیب در تیمارهای مختلف قرار نگرفت. نتایج در بخش غلظت نیتروژن آمونیاکی نشان از وجود تفاوت معنی‌دار (P<۰/۰۵) بین تیمار ۲، ۵ و ۳ به ترتیب نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهاست. به طوری که کمترین مقدار برای تیمار شاهد (بدون فرآوری)، به میزان ۲۱/٤۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است و بیشترین مقدار برای تیمار ۳ با افزودن Mycofix-Plus به جیره، به میزان ۲۲/۱۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. **نتیجه‌گیری:** به‌طورکلی کاهش سموم پاتولین و دیازینون توسط فرآوری با ترکیبات جاذب و غیرفعال کننده سموم در جیره‌های دارای سطوح بالای تفاله سیب سبب بهبود برخی پارامترها و فراسنجه های شکمبه‌ای حیوان شده و علاوه بر تضمین سلامتی ممکن است موجب افزایش کارایی و عملکرد حیوان شد.

واژگان کلیدی: بزهای شیرده مهابادی، پاتولین، تفاله سیب، جاذب سموم، دیازینون

مقدمه

امنیت غذایی یکی از مسائل مهم بشر امروز است .به موازات این مسأله موضوع سلامت غذا نیز مورد توجه مصرف‌کنندگان محصولات کشاورزی قرارگرفته است .با توجه به جمعیت روبه رشد جهان و کمبود منابع غذایی و نیاز به تأمین غذا برای ساکنان زمین حفظ تولیدات کشاورزی از نابودی در اثر خسارات خشک‌سالی و همین‌طور آفات و بیماری‌ها بیش از پیش ضروری به نظر می‌رسد(دهقانی ۱۳۹۱). عدم نظارت بر مقادیر مصرف سموم و عدم توجه به روش‌های کنترل زیستی، علاوه برافزایش هزینه‌ی تولید، ایجاد آفات مقاوم و غیرقابل کنترل و تشدید آلودگی زیست‌محیطی ناشی از فعالیت‌های کشاورزی، سبب افزایش باقی‌مانده سموم در محصولات تولیدی و تهدید سلامت مصرف‌کنندگان می‌شود (کاظمی ۱۳۹۱). بقایای سموم موجود در خوراک دام پس از مصرف، علاوه بر جذب از دستگاه گوارش، در خون و اغلب بافت‌های بدن حیوان همانند بافت چربی، شیر و مدفوع ظاهر می‌شوند (ریکوار و ناگ ۲۰۰۳ و دارکو واسکواه ۲۰۰۸). امکان انباشت سموم آفت‌کش در بافت‌های حیوانی و شیر می‌تواند علاوه بر بروز اثرات بالینی و تحت بالینی در حیوانات مصرف‌کننده (کوچز و همکاران ۱۹۷۰) باعث ایجاد مشکلات جدی همانند آسیب بافت کبدی، بیماری‌های عصبی، تولیدمثلی، پوستی، گوارشی و حتی برخی سرطان‌ها در انسان شود (دهقانی ۱۳۹۱؛ الگانی ۲۰۰۲ و سرون و همکاران ۱۹۹۵).

معمولاً بقایای سموم موجود در علوفه و خوراک پس از مصرف دام، از سیستم‌های مختلف بدن دام عبور کرده و در اغلب بافت های بدن حیوان و همچنین، در شیر و چربی بدن و نیز در مدفوع و خون ظاهر می‌شوند (سازمان بهداشت جهانی ۲۰۰۳). با توجه به اهمیت سلامت و بهداشت عمومی و ضررهای اقتصادی احتمالی بخش دام‌پروری، پیدا کردن و کنترل انتقال سموم از طریق خوراک به دام‌ها به لحاظ اقتصادی و سلامت جامعه، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

سموم قارچی به‌عنوان یک عامل خطر بالقوه برای سلامت انسان و دام در نظر گرفته می‌شوند. خوراک آلوده به سموم قارچی می‌تواند باعث اختلالات و بیماری‌های جدی در دام‌ها و بالطبع به خطر انداختن سلامت انسان‌ها شوند. آلودگی محصولات کشاورزی به مایکوتوکسینها، سبب خسارات اقتصادی بسیاری در صنایع غذایی، دامی و کشاورزی می‌شوند (رجبعلی زاده ۱۳۹۳). پاتولین یکی از سموم قارچی است که به‌وسیله گونه‌های مختلفی از کپک‌ها تولید می‌شود. اکثر این قارچ‌هایی که منجر به تولید پاتولین می‌شوند روی میوه‌های فاسد شده، به‌ویژه سیب، گلابی، انگور و هلو رشد می‌کنند (فتحی آچاچلویی و همکاران ۱۳۸۸).

همچنین شاید بتوان گفت که در بین آفت‌کش‌ها، ارگانوفسفره ها مهم‌ترین سموم موردنظر ازلحاظ ایجاد مسمومیت در انسان هستند. ترکیبات ارگانوفسفره دارای اثرات بیولوژیکی متنوعی هستند، به‌طوری‌که اکثر این آفت‌کش‌ها به‌عنوان حشره‌کش بکار برده می‌شوند. دیازینون یکی از مهمترین و رایجترین سموم گروه ارگانوفسفره بوده که برای کنترل آفات کشاورزی در اکثر مناطق ایران بکار برده می‌شود.

علاوه بر وجود مقادیر متغیری از پاتولین به‌عنوان یک سم قارچی در تفاله سیب تولیدی کارخانه‌های صنایع تبدیلی (مورقاوی و همکاران ۲۰۰۳) آفت‌کش‌ها و سموم مختلفی همانند دیازینون (کاظمی ۱۳۹۱) به‌منظور از بین بردن آفات مختلف میوه سیب استفاده می‌شود. بااین‌حال گزارش‌های زیادی در خصوص وجود مقادیر بالای باقیمانده این سموم در بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها با امکان ایجاد عوارض و اختلالات وسیع و جبران‌ناپذیر در انسان و حیوانات وجود دارد (چن و همکاران ۲۰۱٤؛ لطیف و همکاران ۲۰۱۱ و کاظمی و همکاران ۲۰۱۲).

با توجه به عدم وجود مطالعات دقیق در خصوص مقادیر سموم طبیعی و بقایای آفت‌کش‌ها در تفاله سیب تولیدی صنایع تبدیلی و تأثیر آن بر کارایی تولید و میزان اثر سموم در محصولات تولیدی نشخوارکنندگان کوچک، این

تحقیق به‌منظور ارزیابی تأثیر کاهش میزان سموم پاتولین و دیازینون موجود در تفاله سیب سیلو شده بر روی برخی فراسنجه های شکمبه‌ای (pH، پروتوزوآ، نیتروژن آمونیاکی) و غلظت اسیدهای چرب فرار در بزهای شیرده مهابادی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

دام و تیمارهای آزمایشی

در این مطالعه از ۳۰ رأس بز شیرده نژاد مهابادی بالغ (دو بار زایش) تازه‌زا (هفته اول شیردهی) و با میانگین وزن زنده ۵ ± ۵۵ کیلوگرم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار به مدت ۳۰ روز، استفاده شد. کلیه حیوانات مورداستفاده در این آزمایش بر اساس راهنمای نگهداری و استفاده از حیوانات مزرعه‌ای در تحقیقات علوم دامیFASS (۲۰۱۰) و به‌صورت گروهی نگهداری شدند. جیره‌های غذایی شامل دو بخش علوفه و کنسانتره بود.

Table 1- Edible items of experimental diets based on dry matter (%)

Items	Dry Matter (%)
Apple pomace without processing	28.68
Alfalfa	26.13
Barley	19.89
Corn silage	11.56
Soybean Meal	12.95
Vitamin Mineral Premix	0.79
Mycofix-Plus	-
Bio-Tox	-
Bio-Acid	-
Total	100

بخش علوفه‌ای شامل یونجه و سیلوی ذرت بود که جیره بصورت کاملاً مخلوط در اختیار دام‌ها قرار می‌گرفت.

جیره‌های آزمایشی به میزان تأمین احتیاجات دام، بر اساس توصیه‌های CNCPS با نرم‌افزار SRNS نسخه ۱,۹,٤٤٦٨ دانشگاه کرنل (CNCPS ۲۰۱۲) بر مبنای ماده خشک تنظیم شد که مواد خوراکی مورداستفاده در جیره‌ها شامل (یونجه خشک، سیلاژ ذرت، کنجاله سویا، دانه جو ، تفاله سیب و مکمل ویتامینی معدنی بود. ترکیب مواد خوراکی و موادمغذی جیره‌ی پایه در جدول ۱ نشان داده‌شده است.

تفاله سیب مورداستفاده در این آزمایش دارای ۲۳٪ ماده خشک بود که پس از تهیه از کارخانه پاکدیس (واقع در ۳ کیلومتری ارومیه) تا زمان افزودن به جیره‌ها به‌صورت سیلو شده (۳۰ روز) در شرایط بی‌هوازی نگهداری شد. این آزمایش شامل ۵ تیمار بود: در تیمار ۱ یا گروه شاهد تفاله سیب بدون فرآوری یا افزودنی مورداستفاده قرار گرفت. تفاله سیب مورداستفاده جیره در تیمار دوم با استفاده از ریزموج (دستگاه ماکروویو) (باقدرت ۹۰۰ وات و فرکانس ۲٤٥۰ مگاهرتز به مدت ۲۰ دقیقه) پرتو تابی شد. نمونه‌ها در حین پرتو تابی در هر دقیقه به‌منظور اطمینان از یکنواختی در محفظه‌ی دستگاه هم زده شدند. در تیمار شماره ۳ مقدار ۵۰ گرم به ازای هر رأس بز(۱۷/۷ کیلوگرم به ازای هر تن تفاله سیب)، مکمل جاذب Mycofix-Plus[1] به تفاله سیب مورداستفاده در جیره افزوده شد. همچنین در تیمارهای ٤ و ۵ مقدار یک کیلوگرم به ازای هر تن تفاله سیب، به ترتیب جاذب Bio-Tox[2] و ترکیب اسیدی‌کننده Bio-Acid[3] استفاده شد (جدول ۱). جیره غذایی به‌صورت جیره کاملاً مخلوط در دو وعده غذایی (ساعات ۸ و۱٦) در اختیار دام‌ها قرار داده شد.

۱. مکمل مایکوفیکس پلاس از ۵ ترکیب شامل۱. مخلوط سینرژیستی مواد معدنی ۲. ترکیبات بیولوژیک ۳ . باکتری۷۹۷ BBSH ٤. ترکیبات فایتوژنیک ۵. ترکیبات فایکوفایتیک برای سم زدایی و محافظت زیستی بدن استفاده می نماید.

۲. بیوتکس بیوتکس با تلفیق اثرات سیلیکاتها و عصاره دیواره سلولی مخمر (ساکارومایسس سرویسیه) قابلیت جذب طیف وسیعی از مایکوتوکسینها را دارا بوده و برای جذب مایکوتوکسینها مورد استفاده قرار می گیرد.

۱- اسیدیفایر مورد استفاده حاوی اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و اسید لاکتیک و نمکهای آمونیوم فرمات و آمونیوم پروپیونات بود.

نمونه‌های مایع شکمبه

اندازه‌گیری pH مایع شکمبه

نمونه‌ی مایع شکمبه در روز بیستم بعد از زایش، ٤ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح با استفاده از پمپ خلأ از طریق راه دهان گرفته شد. pH مایع شکمبه بلافاصله با استفاده از دستگاه pHمتر (مدل Schott Titrator Titroline easy) اندازه‌گیری گردید.

اندازه‌گیری اسید چرب و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه

نمونه‌های مایع شکمبه با استفاده از پارچه ٤ لایه‌ی کنفی صاف‌شده و ۲ نمونه ۵۰ میلی‌لیتری از مایع شکمبه با ۱ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۵۰٪ با نسبت ۱ به ۵۰ اسیدسولفوریک به مایع شکمبه برای تعیین مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه و پروفایل اسیدهای چرب فرار شکمبه بر اساس روش رینال و همکاران (۲۰۰۷) مخلوط شده و بلافاصله در سردخانه با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه به روش تیتراسیون با اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال به روش کانوی (۱۹۵۰) اندازه‌گیری شد. این روش بر پایه محاسبه درصد نیتروژن موجود در هر ماده غذایی و برآورد ضریب موردنظر پایه‌گذاری گردیده است. معمولاً ضریب پروتئینی را ٦/۲۵ در نظر می‌گیرند زیرا به‌طور متوسط ۱٦ درصد هر پروتئین را نیتروژن تشکیل می‌دهد. مقدار نیتروژن بر این اصل استوار است که ترکیبات نیتروژنه هنگامی که با اسیدسولفوریک غلیظ هضم می‌شوند نیتروژن موجود را به سولفات آمونیوم $(NH4)_2SO4$ تبدیل می‌کنند. با اضافه کردن قلیا به مخلوط هضم شده، آمونیاک تقطیری آزاد می‌شود و ترکیب آمونیاک با اسید بوریک (بورات آمونیوم) به‌وسیله محلول اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال استاندارد تیتر می‌شود.

برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه به روش اوتنستین و بارتلی (۱۹۷۱)، با دستگاه کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۱/٦۵× ٤/٦ میلی‌لیتر) فیلیپس مدل PU4410 انجام گرفت. .بدین منظور ۱ میلی‌لیتر محلول ۲/۵ مولار متافسفریک استاندارد داخلی به ٤ میلی مایع شکمبه اضافه شد. نمونه‌های تهیه‌شده در طول آزمایش برای تزریق به دستگاه ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس پس از برداشتن مایع رویی مقدار۸ میکرولیتر با سرنگ ۱۰ میکرولیتری به دستگاه تزریق شد. پس از تعیین ناحیه اوج و فاکتور پاسخ‌دهنده هر اسید چرب فرار، غلظت اسیدهای چرب فرار محاسبه شد.

اندازه‌گیری و تعیین میزان پاتولین در نمونه‌های تفاله سیب

در این تحقیق از دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) در اندازه‌گیری میزان پاتولین تفاله سیب استفاده گردید. روش اندازه‌گیری به‌وسیله HPLC دقیق‌تر و حساس‌تر و مطمئن‌تر است. تعیین میزان پاتولین بر اساس استاندارد AOAC (۲۰۰۲) و تدوین‌شده سازمان ملی استاندارد ایران (۱۳۸۳) به شماره ISIRI – ۱۳۱۲۰ در مواد غذایی و میوه‌ها و ISIRI–۱۲۹۵۰ در شیر مورداستفاده و انجام گرفت. در این آزمایش از هر تیمار ۳ نمونه تفاله سیب جهت تعیین میزان پاتولین تهیه و به آزمایشگاه ارسال گردید.

در این آزمایش از دستگاه HPLC با مارک Agilent 1200 با فاز جامد C18، ستون آنالیز ثابت mm ID, µm (250× ٤/٦ C18) BM TRADA و فاز متحرک استونیتریل-آب-استات به نسبت ۱۰: ۸۰: ۱۰ (اسید استیک به‌عنوان بافر) استفاده گردید. همچنین سرعت جریان ml/min ۱ ، طول‌موج دتکتور nm ۲۷٦ و میزان نمونه تزریقی µ ۲۰L بود. نوع دتکتوردر این آزمایش DAD: Direct Array Detector بود.

اندازه‌گیری و استخراج بقایای دیازینون

شناسایی و اندازه گیری باقیمانده سم دیازینون موجود در نمونه‌های تفاله سیب (۳ نمونه از هر تیمار) به کمک دستگاه HPLC انجام گرفت. برای آماده سازی نمونه های آزمایشی، ابتدا ۵ گرم نمونه را توزین نموده و ۱۰ میلی لیتر استونیتریل به عنوان حلال استخراج کننده به آن

اضافه می کنیم. سپس ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک برای اسیدی کردن محیط به آن اضافه می گردد. به مدت ۳ دقیقه با اولتراسوند محیط را کاملا هم زده و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ آن را سانتریفوژ کرده، از پالایه گذرانده و به دستگاه HPLC با مدل Agilent-1200 تزریق گردید (چنگیز و همکاران ۲۰۰۶).

در تعیین دیازینون نمونه‌ها مشخصات دستگاه و آزمایش به شرح زیر بود: فاز جامد C18، ستون آنالیز ثابت Bondapak 125 A (10µm, 3.9×300) و محافظ ستون (2cm×4mm, 5µm) و فاز متحرک استونیتریل-آب به نسبت ۵۵-۴۵ بود. سرعت جریان ml/min ۱/۵ و طول‌موج دتکتور nm ۲۵۴ و حجم نمونه تزریقی µL ۱۰ بود. نوع دتکتور : FLD: Fluorescence Detector

آنالیز آماری

این آزمایش بر روی ۳۰ رأس بز تازه‌زا نژاد مهابادی در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی صورت گرفت. مدل آماری طرح به‌صورت زیر می‌باشد:

$$Yij=\mu+Ai+e_{ij}$$

Yij= مشاهده مربوط به تیمار i در تکرار j؛ µ = میانگین کلی مشاهده‌ها، Ai=اثر تیمار i؛ e_{ij} = اثر اشتباه آزمایشی.

به‌منظور تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS شماره ۱۹ استفاده گردید و میانگین تیمارها نیز به روش آزمون دانکن و در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای آزمایشی بر pH مایع شکمبه در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که فقط pH تیمار ٤ به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش‌یافته و به ٦/٣٦ در مقایسه با ٦/٤٢ تیمار شاهد رسیده و دارای اختلاف است. با توجه به اینکه تیمار ۵ جیره حاوی تفاله سیب مخلوط شده با بیواسید به‌عنوان یک اسیدیفایر می‌باشد و این اسیدیفایر دارای برخی اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها با ترکیب اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و اسیدلاکتیک و نمک‌های آمونیوم فرمات و آمونیوم پروپیونات می‌باشد، لذا کاملاً واضح است که کاهش pH در این تیمار به دلیل وجود برخی اسیدها مورداستفاده در ترکیب آن می‌باشد. همچنین در تیمار ٤ با افزودن مکمل ضد مایکوتوکسین Bio-Tox میزان pH به‌صورت معنی‌داری نسبت به تیمارهای ۲ و ۳ کاهش‌یافته است (٦/٥٠) ولی نسبت به تیمار کنترل دارای اختلاف نمی‌باشد. اما سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر میزان pH مایع شکمبه نسبت به تیمار کنترل نداشتند (P<۰/۰۵).

pH مایع شکمبه تعادلی از غلظت عمده‌ترین اسیدهای چرب فرار شکمبه (استات، پروپیونات، بوتیرات و لاکتات)، آمونیاک، بافر شکمبه و بزاق است. هر چه میزان تخمیر افزایش یابد، محصولات فرعی حاصل از آن یعنی اسیدهای چرب فرار نیز افزایش‌یافته و سبب کاهش pH شکمبه می‌گردند. درنتیجه pH شکمبه شاخصی از میزان تخمیر شکمبه‌ای است (چرچ ۱۹۸۸؛ ون‌سوست ۱۹۹٤). اما همان‌طور که اشاره شد به دلیل وجود برخی اسیدهای چرب و آلی در تیمار ۵، میزان pH به‌صورت معنی‌داری کاهش‌یافته است (P<۰/۰۵).

کاظمی(۱۳۹۱) نیز در تحقیق خود نشان داد که بنتونیت سدیم به دلیل داشتن کاتیون‌های قابل تعویض با یون هیدروژن به‌عنوان بافر عمل کرده و از تغییرات شدید pH شکمبه جلوگیری کرده و بدین ترتیب این آزمایش اثر معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان نداد.

نتایج مربوط به مقایسه میانگین جمعیت پروتوزوآیی شکمبه بین تیمارهای مختلف نیز در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که جمعیت پروتوزوآیی شکمبه تحت تأثیر فرآوری تفاله سیب در تیمارهای مختلف قرار نگرفته است. البته ازنظر عددی کاهش در میزان جمعیت پروتوزوآ در تیمارهای ۲ تا ٤ دیده می‌شود اما این کاهش ازنظر آماری معنی‌دار و قابل‌ملاحظه نیست (P<۰/۰۵).

پروتوزوآ نقش منفی در استفاده از نیتروژن در نشخوارکنندگان دارند. این میکروارگانیسم‌ها با هضم زیادی از باکتری‌های شکمبه موجب کاهش جریان خالص

پروتئین میکروبی از شکمبه به دوازدهه و کاهش راندمان استفاده از نیتروژن در حیوان می‌شود. همچنین پروتوزوآ دارای فعالیت پروتئولیتیکی و دآمیناسیون نیز هستند. و به نظر می‌رسد کاهش نسبی جمعیت پروتوزوآیی نسبت به تیمار شاهد، تحت تأثیر سنتز پروتئین میکروبی است. زیرا از وقتی‌که اثر عمده و منفی پروتوزوآ روی متابولیسم پروتئین نشخوارکنندگان اعمال شد، این کاهش در جمعیت نیز دیده می‌شود (لنگ، ۱۹۹۰؛ رود، ۲۰۰۸). جمعیت نرمال پروتوزوآی شکمبه بز چیزی در حدود ۱۰^۵×۱۶/۳۱ به ازای هر میلی‌لیتر گزارش شد (یاری ۱۳۹٤) نتایج مطالعه کیوتونگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که افزودن نسبت‌های مختلف ترکیبات غیرفعال کننده مایکو-توکسینها به جیره گاوهای شیری باعث افزایش pH به‌طور معنی‌داری گردید. آن‌ها همچنین در تحقیق خود دریافتند که افزودن این ترکیبات باعث کاهش قابل‌ملاحظه میزان جمعیت پروتوزوآ و افزایش برخی میکروارگانیسم‌های شکمبه گردید.

نتایج مربوط به غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در بزهای تحت آزمایش، نشان از وجود تفاوت معنی‌دار بین تیمار ۲، ۵ و ۳ به ترتیب نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهاست. به‌طوری‌که کمترین مقدار برای تیمار شاهد (بدون فرآوری)، به میزان ۲۱/٤۲ میلی‌گرم در دسی لیتر است و بیشترین مقدار برای تیمار ۳ با افزودن Mycofix-Plus به جیره، به میزان ۲۲/۱۲ میلی‌گرم در دسی لیتر بود که درواقع غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار ۳ با افزودن این ترکیب به‌صورت معنی‌داری افزایش‌یافته است (P<۰/۰۵). البته همان‌طور که در جدول مشاهده می‌شود میزان غلظت نیتروژن آمونیاکی به‌صورت معنی‌دار در تیمارهای ۲ و ۵ نیز افزایش پیداکرده است. میزان نیتروژن آمونیاکی در تیمارهای ۲ و ۵ به ۲۱/٦۸ و ۲۱/۹۰ میلی گرم در دسی لیتر رسید. که این افزایش را می‌توان به غیرفعال نمودن برخی از سموم و علی‌الخصوص مایکوتوکسین‌ها نسبت داد که عمدتاً این سموم باعث جلوگیری و بازداری از رشد و فعالیت میکروبی می‌شوند و درنهایت این میکروب‌ها در تخمیر بیشتر غذا و تولید اسیدهای چرب فرار و فراهم شدن ازت میکروبی عمده در این تیمارها را سبب می‌شوند (کیوتونگ و همکاران ۲۰۱۲). لذا این فعل‌وانفعالات منجر به افزایش مصرف خوراک و ناپدید شدن سریع آن از شکمبه و افزایش میزان تخمیر در این تیمارها می‌گردد. نتایج به‌دست‌آمده تقریباً با نتایج دانیک و همکاران (۲۰۰۵) مشابه هستند که افزایش و بالا رفتن میزان آمونیاک شکمبه را گزارش نمودند. همچنین اردمان و همکاران نیز در سال ۱۹۸٦ نتایج مشابهی را ارائه نمودند.

Table 2-The effect of experimental treatments on pH, protozoa and ruminal ammonia nitrogen concentration

	Treatments					P	SEM
Adjective	1	2	3	4	5		
pH	6.42 ab	6.48 a	6.50 a	6.36 b	6.08 c	0.01>	0.042
Protozoal population (10^5 × ml)	16.22	16.20	16.11	16.18	16.18	0.22	0.015
Ammonia nitrogen (mg /dl)	42 .21 d	21.68 c	22.12 a	21.76 bc	21.90 b	0.01>	0.065

Treatments = 1: Control, uncooked apple peel; 2: Macronutrious processed apple pulp; 3: Mycofix Plus-treated apple pomace; 4: Bio-Tox biodized processed apple pulp; 5: Apple pepper Processed with Bio-Acid acidifier; * P <0.05

کاظمی نیز در مطالعه خود در سال ۱۳۹۱ دریافت که استفاده از سطوح مختلف بنتونیت سدیم به‌منظور کاهش دیازینون اثر معنی‌داری بر روی pH نداشت اما سطوح مختلف دیازینون به تنهایی باعث کاهش معنی‌دار میزان نیتروژن آمونیاکی شد که شاید بخشی از این کاهش مربوط به اثرات سمی دیازینون و سایر سموم بر جمعیت باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک بوده باشد (P<۰/۰۵). احتمالاً به دلیل اثر بنتونیت سدیم بر کاهش جمعیت پروتوزوآیی و به‌تناسب آن افزایش جمعیت باکتریایی در شکمبه، برداشت بیشتری از نیتروژن آمونیاکی توسط

میکروارگانیسم‌ها انجام می‌شود و بنابراین، غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه کاهش پیدا می‌کند (ویلیامز و ویترز ۱۹۹۳).

اسیدهای چرب فرار شکمبه

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه در جدول ۳ آورده شده است. همان‌طوری که مشاهده می‌شود غلظت اسیدهای چرب فرار کل، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرارگرفته است و به‌غیراز تیمار ٤ در بقیه تیمارها نسبت کل اسیدهای چرب فرار به‌طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش‌یافته است (P<۰/۰۵). بیشترین میزان اسیدهای چرب در بین تیمارها مربوط به تیمار ۳ که با مکمل مایکوفیکس پلاس فرآوری شده، می‌باشد (۹۳/۱۷ mmol/lit) این در حالی است که میزان اسیدهای چرب کل در تیمار شاهد برابر با ۹۱/۲۷ mmol/lit بود. میزان اسید چرب کل در تیمار ٤ به ۹۰/٦۳ میلی مول در لیتر رسیده که کاهش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

نسبت مولار اسید استیک نیز تقریباً در تمام تیمارها نسبت به تیمار بدون فرآوری کاهش‌یافته اما در مقابل میزان پروپیونیک اسید و بوتیریک اسید در گروه‌هایی که فرآوری انجام‌گرفته و یا یک ترکیب جاذب سموم اضافه‌شده، افزایش‌یافته است. علی‌الخصوص در مورد میزان بوتیرات که در تیمار ۳ به ۱۵/۷۸ درصد رسیده که بیشترین میزان را در بین سایر تیمارها به خود اختصاص داده است. تغییرات در بوتیرات در سایر تیمارها نیز روند افزایشی داشته که این افزایش قابل‌ملاحظه و معنی‌دار نشان داده شد (P<۰/۰۵). به‌طورکلی میزان اسیدهای چرب فرار تقریباً در تمام تیمارها نسبت به تیمار شاهد افزایش‌یافته است (P<۰/۰۵).

Table 3- Effect of experimental treatments on ruminal esophagus fatty acids

	Treatments					P	SEM
Adjective	1	2	3	4	5		
Total fatty acid (lit /mmol)	91.27 [d]	91.80 [c]	93.17 [a]	90.63 [e]	92.71 [b]	0.01>	0.24
Acetate (% mol)	61.25	60.59	60.8	61.03	61.33	0.606	0.15
Propionate + Isobutyrate (%)	21.66	22.68	23.50	24.00	24.24	0.058	0.33
Butyrate (%)	13.19 [e]	15.39 [b]	15.78 [a]	14.77 [c]	14.60 [d]	0.01>	0.23
Valerate (%)	2.15	2.19	2.13	2.14	2.13	0.11	0.073

Treatments = 1: Control, uncooked apple peel; 2: Macronutrious processed apple pulp; 3: Mycofix Plus-treated apple pomace; 4: Bio-Tox biodized processed apple pulp; 5: Apple pepper Processed with Bio-Acid acidifier; * P <0.05

به نظر می‌رسد افزایش میزان اسیدهای چرب در تیمارهای مختلف احتمالاً به دلیل کاهش یا غیرفعال شدن میزان برخی سموم و افزایش میزان جمعیت باکتریایی باشد، (ژوانی ۱۹۹٤). کیوتونگ و همکاران (۲۰۱۲) نیز در تحقیق خود نیز نتایج مشابهی در این صفات دریافت نمودند آنها در مطالعه اثرات غیرفعال کننده‌های مایکوتوکسین‌ها روی صفات و پارامترهای تخمیری و جمعیت میکروارگانیسم‌ها و اسیدهای چرب فرار شکمبه دریافتند که میزان کل اسیدهای چرب به‌غیراز نسبت مولار استات افزایش یافت همچنین آنها نشان دادند که جمعیت کل باکتری، اسپور قارچی، باکتری زیستی، باکتری آمیلولیتیک، باکتری پروتئولیتیک و سلولوتیک افزایش یافتند درحالی‌که جمعیت پروتوزوآ کاهش یافت لذا می‌توان استناد نمود که افزایش میزان جمعیت‌های باکتریایی می‌تواند دلیلی برافزایش میزان اسیدهای چرب فرار باشد (ژوانی ۱۹۹٤).

میزان باقیمانده پاتولین

نتایج مربوط به میزان سم پاتولین در تیمارهای مختلف حاصل از فرآوری تفاله سیب در آزمایش درون تنی در جدول ٤ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که فرآوری تفاله سیب با توکسین بایندر Bio-Tox بهترین تأثیر را بر

روی کاهش میزان سم پاتولین داشته است میزان پاتولین در تیمار ٤ که در آن تفاله سیب با Bio-Tox فرآوری و مخلوط گردید ۵۸ میکروگرم در کیلوگرم نشان داده شد که در مقایسه با تیمار بدون فرآوری (شاهد) ۱۷۸ میکروگرم در کیلوگرم تفاوت معنی‌داری (P< ۰/۰۵) را نشان می‌دهد. همچنین فرآوری تفاله سیب با توکسین بایندر Mycofix-Plus و اسیدیفایر Bio-Acid نیز به ترتیب برابر ۸۱ و ۷٦ میکروگرم در کیلوگرم بود که کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در اثر آنها مشاهده می‌گردد. استفاده از پرتوتابی ریزموج نیز بر روی کاهش میزان سم پاتولین مؤثر بوده و میزان این سم را به ۱٦۲ میکروگرم در کیلوگرم کاهش داده است که در مقایسه با تیمار کنترل تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

Table 4- The amount of pesticide residues found in different treatments of apple pomace processing

Toxin	1	2	3	4	5	**P-Value**	**SEM**
Patulin(µg/kg)	178 [a]	16 2 [b]	81 [c]	58 [d]	76 [c]	0.01>	13.138
Diazinon (mg /kg)	0.936 [a]	0.852 [b]	0.279 [e]	0.337 [d]	0.354 [c]	0.01>	0.075

Treatments = 1: Control, uncooked apple peel; 2: Macronutrious processed apple pulp; 3: Mycofix Plus-treated apple pomace; 4: Bio-Tox biodized processed apple pulp; 5: Apple pepper Processed with Bio-Acid acidifier; * P <0.05.

مقدار مجاز پاتولین در مواد غذایی (کنسانتره ها) در حدود ۵۰ میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد و سازمان بهداشت جهانی هم این مقدار را مجاز دانسته است (لینکلای و همکاران ۲۰۰۰). از سویی دیگر مواد استفاده‌شده در تیمارهای ۳ و ٤ دو نوع مختلف از مایکوتوکسین بایندرها می‌باشند که می‌توانند الگوی مناسبی برای کاهش میزان برخی سموم و به‌ویژه مایکوتوکسینها باشند. در تیمار ۳ از مکمل Mycofix-Plus استفاده گردید، این ماده از نوع افزودنی بنتونیت (دی اکتا هیدرال مونتموریلونایت) می‌باشد که بیش از ۷۰٪ از همین ترکیب می‌باشد. بنتونیت با فرمول عمومی (Na,Ca)(Al,Mg)(Si4O10)3 (OH)6 nH2o) دارای بیش از ۷۵ درصد مواد معدنی به‌صورت کمپلکس می‌باشد (بات و همکاران ۱۹۸۰). این ترکیب دارای ساختار میکروسکوپی لایه‌لایه است که وقتی در معرض آب قرار می‌گیرد حجیم‌شده و اجازه جذب سایر مولکول‌ها را به خود می‌دهد (راموس ۱۹۹٦). همچنین بنتونیت دارای ظرفیت تبادل یونی بالا و توانایی جذب بالای مایکوتوکسینها است (دیاز و اسمیت ۲۰۰۵). این خصوصیات احتمالاً می‌تواند دلایل محکم و قانع‌کننده‌ای در کاهش میزان مایکوتوکسین پاتولین موجود در تفاله سیب تیمار ۳ باشد. البته باید اشاره کرد که در مایکوفیکس پلاس از ۵ ترکیب برای سم‌زدایی و محافظت زیستی بدن جهت مقابله با آثار سوء مایکوتوکسینها استفاده‌شده است: این ترکیبات شامل مخلوط سینرژیستی مواد معدنی، ترکیبات بیولوژیک، باکتری BBSH 797، ترکیبات فایتوژنیک، ترکیبات فایکوفایتیک که درمجموع با توجه به نقش و تأثیر این ترکیبات می‌توانند در کاهش و غیرفعال سازی سموم و بخصوص سموم قارچی نقش تعیین‌کننده‌ای را ایفا نمایند (کیوتونگ و همکاران ۲۰۱۲ ؛ EFSA ۲۰۱۱).

با توجه به توضیحات فوق می‌توان گفت که کاهش میزان پاتولین با افزودن Mycofix-Plus در تیمار ۳ امری طبیعی باشد. این تأثیر را رید و همکارانش (۲۰۱۱) در مطالعه خود بر روی عملکرد بره‌های نژاد Coopworth که از نوعی علف مرتعی بنام Ryegrass حاوی مایکوتوکسینها (Neotyphodium endophyte) استفاده کردند، نشان دادند. آنها مشاهده کردند که افزودن Mycofix-Plus به‌عنوان یک غیرفعال کننده مایکوتوکسینها باعث بهبود در عملکرد بخصوص عملکرد وزنی بره‌ها می‌شود. همچنین رید و همکارانش (۲۰۱۱) در مطالعه مشابه دیگری تأثیر استفاده از مایکوفیکس را بر روی آلپاکاهای تغذیه‌کننده از علف مرتعی Ryegrass که

آلوده به اندوفیت (Neotyphidium Spp) بودند را نشان دادند. این محققین دریافتند که در گروه‌هایی از گوسفندان که مکمل مایکوفیکس را دریافته بودند میزان علائم سمیت کمتر بوده و عملکرد گوسفندان به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای بهتر و مطلوب‌تر ارزیابی‌شده است.

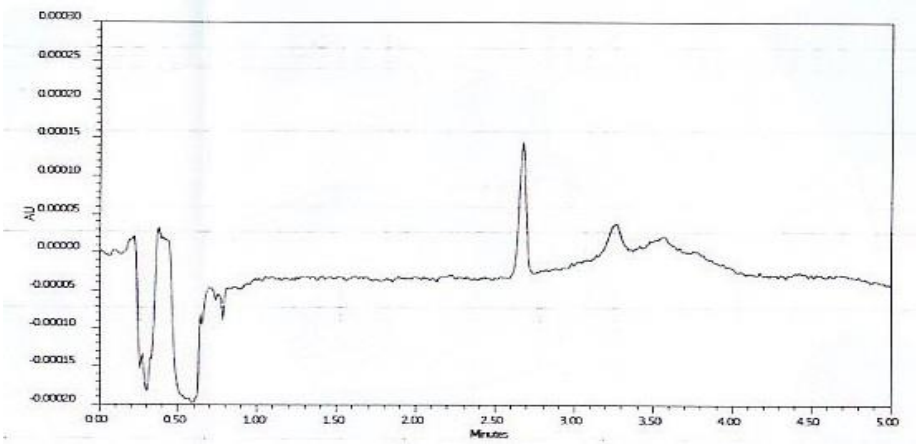

Figure 1- The apple pomace patulin measurement curve

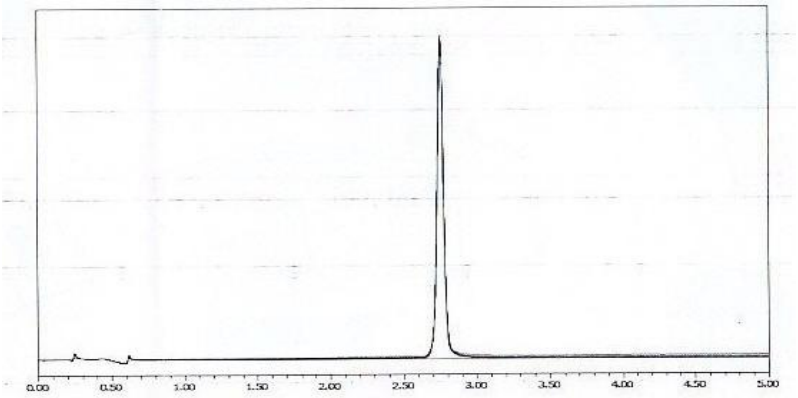

Figure 2-Patulin standard curve

همچنین ژوایسین و همکارانش در سال ۲۰۱۶ اثرات برخی مایکوتوکسینها را بر روی سلامتی و عملکرد گاوهای شیری موردبررسی قراردادند. درواقع هدف این مطالعه اثرات طولانی‌مدت سموم موجود در یک جیره طبیعی آلوده به مایکوتوکسینها بر روی تولید و ترکیب شیر، پارامترهای بیوشیمیایی، هماتولوژیکی و ایمونولوژیکی گاوهای شیری و تعیین اثرات اضافه نمودن مایکوفیکس پلاس به‌عنوان یک مایکوتوکسین بایندر در کاهش این مایکوتوکسینها بود. که تقریباً نتایج مثبتی نیز در این راستا به دست آورد.

میزان پاتولین در تیمار ٤ به ٥٨ میکروگرم در کیلوگرم رسید که این مقدار در بین کل تیمارها کمترین میزان و دارای اختلاف معنی‌داری ($P< ۰/۰۵$) نسبت به تیمار شاهد می‌باشد. با توجه به اینکه در این تیمار برای فرآوری تفاله سیب از یک توکسین بایندر آلی و زیستی بنام Bio-Tox استفاده‌شده است می‌توان گفت که Bio-Tox با تلفیق اثرات سیلیکاتها و عصاره دیواره سلولی مخمر (ساکارومایسس سرویسیه) قابلیت جذب طیف وسیعی از مایکوتوکسینها را دارا می‌باشد. همچنین اثرات سودمند ساکارومایسس سرویسیه به مانان موجود در دیواره سلولی مخمر نسبت داده می شود (عظیمی و همکاران ۱۳۹۱). درواقع توکسین بایندرهای آلی بر پایه بتا گلوکان (دیواره داخلی مخمر) می‌باشند و از دیواره داخلی مخمر استخراج‌شده‌اند دارای ساختار ۱ و ۳ بتا گلوکان و ۱ و ٦ بتا گلوکان بوده و مولکول غیر قطبی و بدون بار می‌باشند. درنتیجه مواد مغذی جیره و ریزمغذی‌ها را به خود جذب

نمی‌کنند. در واقع باید گفت که یک واکنش دوسطحی بین بخش گلوکان دیواره سلولی و مولکول مایکوتوکسینها رخ می دهد (عظیمی و همکاران ۱۳۹۱). با توجه به ساختار مارپیچی و فنر مانندی که دارند ظرفیت جذب بالایی دارند بطوریکه ۱ گرم از آنها سطحی برابر ۲۰ مترمربع را پوشش می‌دهند. و از طرفی چون بر اساس باندهای هیدروژنی و واندروالسی مایکوتوکسینها را جذب می‌کنند، میل ترکیبی بالایی برای جذب دارند که در مقدار کم سم هم مؤثر واقع می‌شوند.

به نظر می‌رسد این توکسین بایندرها با استفاده صرفاً دیواره‌های سلولی مخمر (متشکل از β- گلوکان و مانان الیگوساکاریدها) به‌جای کل سلول، اتصال به مایکوتوکسین می‌تواند افزایش یابد. این‌که سلول‌های مرده توانایی اتصال خودشان را از دست نمی‌دهند نشان می‌دهد که تعامل چنین محصولاتی با مایکوتوکسین ها از طریق چسبندگی با اجزاء سازنده دیواره سلولی است نه از طریق اتصال کووالانسی یا متابولیسم. (رجبعلی زاده ۱۳۹۳).

کیوتونگ و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نیز در مطالعه‌ای اثرات مثبت استفاده از غیرفعال کننده‌های مایکوتوکسینها در جیره گاوهای شیری نشان دادند. آن‌ها در تحقیق خود نشان دادند که استفاده از سطوح مختلف غیرفعال کننده‌های مایکوتوکسینها (۰، ۱۵، ۳۰ و ٤٥ گرم به ازای هر رأس در هرروز) تأثیرات بسیار مثبتی بر روی کاهش برخی مایکوتوکسینهای خطرناک موجود در جیره و درنتیجه بهبود برخی پارامترها و عملکرد این گاوها دارد. لذا باید گفت که این مکمل‌ها هم‌اکنون به‌عنوان مکمل‌های ضد مایکوتوکسین شناخته‌شده و در صنعت خوراک دام و طیور بصورت یک افزودنی بکار برده می‌شوند.(کیوتونگ و همکاران ۲۰۱۲ و EFSA ۲۰۱۱).

در تیمار ٥ نیز تفاله سیب با استفاده از یک مکمل اسیدی‌کننده بانام تجاری Bio-Acid به‌منظور کاهش سموم و علی‌الخصوص پاتولین موجود مورد فرآوری قرار گرفت. همان‌گونه که اشاره شد میزان کاهش پاتولین در مقایسه با تیمار شاهد قابل‌ملاحظه و معنی‌دار بود (P< ۰/۰٥). این مکمل حاوی اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و اسیدلاکتیک و نمک‌های آن‌ها آمونیوم فرمات و آمونیوم پروپیونات است. بدیهی است که کاهش pH شکمبه و روده باریک و اسیدی نمودن محیط می‌تواند از خصوصیات این مکمل باشد. لوک استاد (۲۰۱٤) نیز در مطالعه خود به‌وضوح به نقش ضد میکروبی و باکتریایی اسیدیفایرها و نمکهای آنیونی و مقاومت در برابر آنها و همچنین محدودیت در مقابل رشد آنها را اشاره نموده است. به نظر می‌رسد کاهش pH شکمبه در اثر افزودن اسیدهای آلی موجود در ترکیب اسیدی‌کننده و رسیدن pH شکمبه به حدود ۳/٥ تا ٤ موجب تخریب قسمت اعظم این سموم شود. در این حالت این ترکیبات به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک عمل نموده و موجب کاهش بقایای سموم و برخی باکتری‌ها نیز می‌شوند کیم و همکاران (۲۰۰٤). همچنین اسیدها با توزیع در بدن رشد برخی سموم را سرکوب نموده و توانایی اثر آنها را محدود می‌کنند (لوک استاد ۲۰۱٤).

کیم و همکارانش (۲۰۰٤) نیز به نقش اسیدیفایرها به‌عنوان یک آنتی‌بیوتیک و مقابله با برخی میکروارگانیسم‌های مضر و افزایش و بهبود راندمان حیوان و همچنین برخی پارامترهای تغذیه‌ای اشاره‌کرده‌اند.

نتایج استفاده از روش حرارت دهی و پرتو تابی ریزموج در ماکروویو در این آزمایش نشان داد که میزان کاهش پاتولین با فرآوری خوراک به ۱٦۲ میکروگرم در کیلوگرم رسید که در مقایسه با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری (P< ۰/۰٥) را از خود نشان می‌دهد. البته بونچر و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در مطالعه خود به‌منظور فرآیند سازی هویج با روش‌های مختلف برای کاهش بقایای آفت‌کش‌ها تفاوت معنی‌داری در فرآوری و پختن هویج با ماکروویو مشاهده نکردند. به نظر می رسد عواملی مانند روش پخت، نوع سیستم پخت (باز یا بسته)، درجه حرارت مورد استفاده، مدت زمان پخت و مقدار آب و افزودنی‌های مورد استفاده احتمالاً عوامل اثرگذار بر میزان کاهش آفت

کش ها می‌باشند (کوشیک و همکاران، ۲۰۰۹). همچنین مطالعه انجام شده بر روی اسفناج کاهش اندک میزان بقایای آفتکش را طی پخت در ماکروویو نشان داده است(بونچر و همکاران ۲۰۱۲) که این کاهش اندک در میزان بقایای آفت‌کش تقریباً مطابق با تحقیق انجام شده ماست.

با در نظر گرفتن همه این توضیحات ذکر این نکته ضروری است که باوجوداینکه عوامل و مواد مختلف در تیمارها میزان پاتولین را به حد قابل‌ملاحظه‌ای کاهش داده است اما میزان باقیمانده سم بعد از فرآوری و اعمال تیمارهای مختلف به‌غیراز تیمار ٤ هنوز بالاتر از حد مجاز باقیمانده سم و استاندارد جهانی یعنی۵۰ میکروگرم در کیلوگرم برای آب سیب و ۲۵ میکروگرم در کیلوگرم برای فرآورده‌های جامد سیب می‌باشد (مورالس و همکاران ۲۰۰٦؛ پل و همکاران ۲۰۱۰).

میزان باقیمانده دیازینون[1] در تیمارهای حاصل از فرآوری تفاله سیب

نتایج مربوط به میزان سم دیازینون در تیمارهای مختلف حاصل از فرآوری تفاله سیب در آزمایش درون تنی در جدول ٤ آورده شده است. نتایج نشان می‌دهد که میزان این سم در تیمار ۳ (فرآوری شده با مایکوفیکس پلاس) کمترین مقدار (۰/۲۷۹ میلی‌گرم در کیلوگرم) را در بین سایر تیمارها داراست که نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری (P< ۰/۰۵) را از خود نشان می‌دهد. فرآوری تفاله سیب با Bio-Tox و Bio-Acid در تیمارهای ٤ و ۵ میزان دیازینون را به ۰/۳۳۷ و ۰/۳۵٤ میلی‌گرم در کیلوگرم به ترتیب کاهش داد. این میزان کاهش در مقایسه با تیمار شاهد و سایر تیمارها قابل‌ملاحظه و معنی‌دار (P< ۰/۰۵) می‌باشد. در تیمار ۲ نیز در اثر فرآیند سازی تفاله با پرتو تابی ریزموج در دستگاه ماکروویو کاهش میزان سم در مقایسه با سایر تیمارها بسیار کمتر و در حدود ۰/۸۵۲ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد.

به نظر می‌رسد این کاهش سم در تیمار ۳ احتمالاً مربوط به وجود بنتونیت سدیم در ترکیب مایکوفیکس پلاس باشد که دارای ظرفیت تبادل کاتیونی بسیار بالایی می‌باشد (حجازی و قربانی ۱۳۷۳). همچنین بنتونیت در خانواده سیلیکات‌های صفحه‌ای و گروه اسمکتیت بوده و دارای ساختمان سه لایه‌ای می‌باشد که یک‌لایه آلومینیوم با پیوندهای سست بین دولایه سیلیس قرار می‌گیرد. بنتونیت به دلیل وجود این ساختمان سه لایه، دارای خاصیت کلوئیدی می‌باشد.

با توجه به جدول ٤ مشاهده می‌شود که میزان دیازینون در تیمار ۱ (شاهد) و تیمار ۲ فرآوری شده با پرتو تابی ماکروویو بیشتر از میزان مجاز باقیمانده (MRL) دیازینون در تفاله سیب یعنی ۵ /۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است (CFR، ۲۰۰۱). فرآوری تفاله سیب با برخی توکسین بایندرها در تیمارهای ۳، ٤ و ۵ تا حدودی از باقیمانده سم کاسته و میزان آن را به کمتر از حد مجاز باقیمانده رسانیده است. البته تحقیقات نشان داده است که ماندگاری و ذخیره مواد خوراکی به‌تدریج باعث کاهش دیازینون و درنهایت از بین رفتن آن می‌شود. در تحقیق کاظمی (۱۳۹۱) نشان داده شد که سیلو نمودن یونجه تازه باعث می‌شود تا میزان دیازینون در هفته ۱۲ام بعد از سیلو شدن، مقدارش به صفر برسد. و شاید بتوان یکی از مزایای سیلو کردن را همین مسئله تنزل آفت‌کش‌ها در زمان سیلو کردن دانست. اما به نظر می‌رسد که درمجموع عوامل بسیاری می‌توانند در فرآیند تجزیه آفت‌کش‌ها در گیاه وجود داشته باشد که نتایج تحقیقات مختلف را تحت تأثیر خودش قرار خواهد داد که ازجمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به شرایط آب و هوایی و میزان بارندگی و نوع گیاه و دز آفت‌کش بکار برده شده اشاره نمود (کاظمی ۱۳۹۱).

[1] Diazinon

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد فرآوری تفاله سیب با ترکیبات جاذب و غیرفعال کننده سموم Mycofix-Plus و Bio-Tox افزودن مقادیری از ترکیبات جاذب تجاری فوق به تفاله سیب مورداستفاده در جیره‌هایی با سطوح بالای تفاله سبب موجب کاهش سموم پاتولین و دیازینون سبب بهبود برخی پارامترها و فراسنجه های شکمبه‌ای حیوان شده و علاوه بر تضمین سلامتی موجب افزایش کارایی و عملکرد حیوان خواهد شد.

لذا با توجه به حضور سطوح فراتر از استاندارد این سموم در تفاله سیب سیلو شده، می‌توان به این نتیجه رسید که استفاده از مکمل‌های جاذب سموم در هنگام استفاده از سطوح بالای تفاله سیب در جیره به‌منظور اطمینان از عدم ایجاد تأثیر منفی بر متابولیسم بدن و عدم انتقال به شیر ضروری است.

منابع مورداستفاده

Abd-El-Ghaney A, 2002. Study the effect of imidacloprid insecticide on some physiological parameters in Japanese quail. Thesis for M.Sc. Faculty of Science Al-Azhar University for Girls.

AOAC International. 2002. Official methods of analysis of AOAC International. 17th edition. 1st revision. Gaithersburg, MD, USA, Association of Analytical Communities.

Azimi J, Karimi Torshizi MA and Allameh A, 2012. Coparison of effectiveness of some mycotoxin absorbents on alteration of biochemical and hematological parameters in broiler chickens. Journal of Animal Science Researches 22(3): 49-62.

Bhat DL, Dunbar JR, King JM, Berry SL, Leonard RO and Olbrich SE, 1980. By products and unusual feedstuffs in livestock rations. Western regional extension publication, No 39, USDA-ARS, Washington DC, USA.

BioTox, 2017. F:\ \BIOTOX - Mycotoxins binders, Baltivet.htm.

Bonnechère A, Hanot V, Jolie R, Hendrickx M, Bragard C and Bedoret T, 2012. Effect of household and industrial processing on levels of five pesticide residues and two degradation products in spinach. Food Control 25: 397-406.

Ceron JJ, Panizo CG. and Montez A, 1995. Ceron, JJ, Panizo CG and Montes A, 1995. Toxicological effects in rabbits induced by endosulfan, lindane, and methylparathion representing agricultural byproducts contamination. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 54(2): 258-265.

CFR, Code of Federal Regulations, 2017. Imidacloprid tolerances for residues http://www.lawschool.cornell.edu. 40 CFR 180. 472.

Chen M, Tao L, McLean J and Lu C, 2014. Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposure. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62(26): 6082-6090.

Cengiz MF, Certel M and Göçmen H, 2006. Residue contents of DDVP (Dichlorvos) and diazinon applied on cucumbers grown in greenhouses and their reduction by duration of a pre-harvest interval and post-harvest culinary applications. Food Chemistry 98(1): 127-135.

Church DC, 1988. The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.

Dänicke S, Matthaus K, Lebzien P, Valenta H, Stemme K, Ueberschar KH, Razzazi-Fazeli E, Bohm J and Flachowsky G, 2005. Effects of Fusarium toxin-contaminated wheat grain on nutrient turnover, microbial protein synthesis and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone in the rumen of dairy cows. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 89: 303–315.

Darko G and Acquaah SO, 2008. Levels of organochloride pesticidesresidues in dairy products in Kumasi, Ghana. Chemosphere 71: 294–298.

Dehghani R, 2012. Environmental Toxicology. Tak Derakht Press, Iran.

Diaz-Llano G and Smith TK, 2007. The effects of feeding grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins with and without a polymeric glucomannan adsorbent on lactation, serum chemistry, and reproductive performance after weaning of first-parity lactating sows. Journal of Animal Science 85: 1412-1423.

EFSA Panel on Additives and Products or Substances Used in Animal Feed (FEEDAP), 2011. Scientific Opinion on the safety and efficacy of bentonite (dioctahedralmontmorillonite) as feed additive for all species. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Journal 9(2): 1-24.

Erdman RA, Proctor GH and Van Dersall JH. 1986. Effect of rumen ammonia concentration on in situ rate and extent of digestion of feedstuffs. Journal of Dairy Science 69: 2312–2320. doi:10.3168/jds.S0022-0302 (86)80670-1.

Fathi Achachlouei B, Azadmard-Damirchi S, Hesari J and Nemati M, 2009. Patulin Content in Fruit Juices Produced by Several Factories in Iran. Journal of Food Industries Research 19(1): 1-12.

FASS, 2010. FASS Guide For the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. Journal of the American Association for Laboratory Animal Science 51(3):298-300

Hejazi M, and Ghorbani M, 1995. Geology of Iran. Zeolite bentonite. Geological Society of Iran Publications.

Jouany JP, 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. Animal Feed Science and Technology 137(3-4): 342-362.

Jovaisiene J, Bakutis B, Baliukoniene V and Gerulis G, 2016. Fusarium and Aspergillus Mycotoxins Effects on Dairy Cow Health, Performance and the Efficacy of Anti-Mycotoxin Additive. Polish Journal of Veterinary Sciences 19(1): 79-87.

Kazemi M, 2012. Effect of organophosphate pesticides in feedstuff on rumen ecosystem, performance and bloodmetabolitesof ruminants and its transitioninanimal products with or without sodium bentonite. Thesis for Ph.D, Ferdowsi University of Mashhad. Iran.

Kazemi M, Tahmasbi A M, Valizadeh R and Naserian AA, 2012. Toxic influence of diazinon as an organophosphate pesticide on parameters of dry matter degradability according to in situ technique. J of Basic and Applied Sciences 12(06): 229-233.

Kim YY, Kil DY, Oh HK and Han In K, 2004. Acidifier as an Alternative Material to Antibiotics in Animal Feed. 3rd International Symposium on Recent Advances in Animal Nutrition. Pp. 1084-1059. Proceeding of 11th Animal Sciences Congress, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Kuala Lumpur, Malaysia.

Kiyothong K, Roelinson P, Wanapat M and Khampa S, 2012. Effect of mycotoxin deactivator product supplementation on dairy cows. Animal Production Science 52(9): 832-841.

Kutches AJ, Church DC and Duryee FL, 1970. Toxicological effects ofpesticides on rumen function in vitro. Journal of Agricultural and Food Chemistry 18(3): 430-433.

Latif Y, Sherazi TH and Bhanger MI, 2011. Assessment of Pesticide Residues in Some Fruits Using Gas Chromatography Coupled withMicro Electron Capture Detector. Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry 12(1): 76-87.

Leng RA, 1990. Forage utilisation by ruminants. Nutrition Research Reviews 3: 277–303.

Linglai C, You M and Yang CD, 2000. Detection of mycotoxin patulin in apple juice. Journal of Food and Drug Analysis 8(2): 85-96

Lukstadt C, 2014. Acidifiers in Animal Nutrition A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance. Published in: Technology, Business, Nottingham University Press.

Morales H, Marin S, Rovira A, Ramos AJ, and sanchis V, 2006. Patulin accumulation in apples by Penicillium expansum during postharvest stages. Letters in Applied Microbiology 44(1): 30-35.

Morgavi DP, Boudra H, Jouany JP and Graviou D, 2003. Prevention of patulin toxicity on rumen microbial fermentation by SH containing reducing agents. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(23): 6906-6910

Ottenstein DM and Batler DA., 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. Analytical Chemistry 43(7):952-955.

Puel O, Galitier P and Oswald IP, 2010. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. Toxins 2: 613-631.

Raikwar MK and Nag SK, 2003. Organochlorine pesticide residues in animal feeds. In: Proceedings of 40th Annual Convention of Chemists. J of Indian Chemical Society, p. D4.

Rajabalizadeh L, 2014. Review of the latest bio-and non-biological methods for the smoke removal of mycotoxins. Journal of Laboratory and Diagnosis 26(6): 64-73.

Ramos AJ, Fink-Gremmels J and Hernandez E., 1996. Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. Journal of Food Protection 59: 631-641.

Reed KFM, Cummins LJ, Moore DD and Clark AJ., 2011, Performance of Coopworth ewe lambs exposed to low levels of ryegrass endophyte (Neotyphodium lolii) alkaloids and allowed access to a mycotoxin deactivator. Animal Production Science 51: 225–232.

Reynal SM, Ipharraguerre IR, Lineiro M, Brito AF, Broderick GA and Clark JH, 2007. Omasal flow of soluble proteins, peptides, and free amino acids in dairy cows fed diets supplemented with proteins of varying ruminal degradabilities. Journal of Dairy Science 90(4): 1887-1903.

Rode LM, 2008. 'Maintaining a healthy rumen – An overview.' Available at http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/2000/Chapter10.htm [verified 5 August 2009].

SRNS, 2012. Small ruminant nutrition system, ver 1.9.4468. Offcial website: http://nutritionmodels.tamu.edu/srns.html.

Van Soest PJ, 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornel University Press, Ithaca, New York. Pp: 374.

Williams AG and Withers SE, 1993. Changes in the rumen microbial populations and its activities during the refaunation period after the reintroduction of ciliate protozoa into the rumen of defaunated sheep. Canadian Journal of Microbiology 31:61-69.

World Health Organization, 2003. GEMS/Food Regional Diets (Regional Per Capita. Consumption of Raw and Semi-Processed Agricultural Commodities. Geneva, Switzerland.

Yari M, 2015. The effect of fennel seed powder combined with diets containing corn or barley on milk production and composition, rumen fermentation and some blood parameters of Mahabadi dairy goats during the transition period. Master thesis. Urmia University, Iran.

Effect of reducing the amount of Patulin and Diazinon in ensiled apple pomace on some rumen parameters (pH, protozoa, ammonia nitrogen) and concentration of volatile fatty acids in Mahabadi lactation goats

A Golghasem Gharehbagh[1*], R Pirmohammadi[2], H Khalilvandi-Behroozyar[2] and A Bigdeli Khajehdizaji[3]

Received: May 1, 2019 Accepted: January 28, 2020
[1]Assistant Professor and Lecturer, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran
[2]Professor Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Lecturer, Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University, Urmia, Iran
[*]Corresponding Author: A_GH_gharebagh@yahoo.com

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research

Journal of Animal Science/vol.31 No.1/ 2021/pp 11-26
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

OPEN ACCESS

© 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.2021.33043.1494

Introduction: The amount of residues of some pesticides in some animal and poultry feeds in Iran is considered higher than the international standard. The purpose of this study was to determine the effect of reducing the amount of patulin and diazinon in ensiled apple pomace on some rumen parameters (pH, protozoa, ammonia nitrogen) and the concentrations of volatile fatty acids in the Mahabadi lactation goats that consuming diets containing high apple pomace (28.88% in dry matter).
Material and methods: In this study, 30 mature Mahabadi lactation goats (Freshener) with mean live weight of 55 ± 5 kg (mean ± SD), with 5 experimental treatments and 6 replications were used in a completely randomized design. Experimental treatments consisted of unprocessed apple pomace (control group), microwaved apple pomace (treatment 2), processed apple pomace with two commercially active adsorbent pesticides (50 g/d respectively for every goat head and one kg/t of apple pomace (3 and 4) and apple pomace processed with a commercial acidifier compound (treatment 5). A rumen fluid sample was taken by mouth through a vacuum pump on the 20th day after calving, 4 hours after morning feeding. Ruminal fluid pH was measured immediately using a pH meter (Schott Titrator Titroline easy model). Volatile fatty acids in the rumen were measured by Ottenstein and Bartley (1971) using a Philips PU4410 glass column gas chromatograph (4.6 1 1.65 ml). Determination of patulin was performed according to AOAC standard (2002) and formulated by National Standards Organization of Iran (2004) with ISIRI-13120 in food and fruits and ISIRI-12950 in milk. In this experiment, 3 samples of apple pomace were prepared from each treatment to determine the amount of patulin and were sent to the laboratory. In this study, high performance liquid chromatography (HPLC) was used to measure the patulin and diazinon of apple pomace. SPSS software was used for statistical analysis and mean treatments were compared by Duncan test at 5% probability level.
Results and discussion: The results showed that the highest amount of patulin and diazinon in different treatments were in the control group (178 Kg / µg and 936.0 mg / kg) and the lowest levels were related to treatments treated with Bio-Tox toxin binder and Mycofix Plus (58 µg/Kg and 279/0 mg/kg). It seems that this decrease in toxin in treatment 3 is probably due to the presence of sodium bentonite in the Mycofix Plus compound which has a very high cation exchange capacity (Hejazi and

Ghorbani 1994). Bentonite is also found in the plate silicate family and the smectite group and has a three-layer structure that is an aluminum layer with loose bonds between the silica bilayer. Bentonite is colloidal because of this three-layer structure. Patulin level in treatment 4 reached 58 µg/Kg, which was the lowest and significant difference ($P<0.05$) in all treatments. Given that the treatment of apple pomace with an organic and biological binder toxin called Bio-Tox has been used in this treatment, it can be said that by combining the effects of silicates and yeast cell wall extract (Saccharomyces cerevisiae), a wide range of mycotoxins can be absorbed. It has. The beneficial effects of Saccharomyces cerevisiae have also been attributed to the mannan in the yeast cell wall (Azimi et al 2012). In fact, toxins are organic binders based on beta-glucan (inner wall of yeast) and extracted from the inner wall of yeast. As a result, they do not absorb nutrients from the ration and micronutrients. In treatment 5, the reduction in patulin was significant and significant ($P<0.05$). This supplement contains formic acid, propionic acid and lactic acid and their salts are ammonium formate and ammonium propionate. Obviously, lowering the pH of the rumen and small intestine and acidifying the environment can be a characteristic of this supplement. The acids distributed in the body also suppress the growth of some toxins and limit their ability to work. It seems that the decrease in rumen pH due to the addition of organic acids in the acidic compound and reaching the rumen pH of about 3.5 to 4 will cause the majority of these toxins to be destroyed. In this case, these compounds act as an antibiotic and reduce residues of toxins and some bacteria. Therefore, only the pH of treatment 5 decreased significantly in comparison with control group (6.36 vs. 6.42). Also, the results showed that ruminal protozoa population was not affected by apple pomace processing in different treatments, and the ammonia nitrogen concentrations of rumen fluid in the experimental goats showed a significant difference between treatment 2, 5 and 3, in relation to, control and other treatments, respectively. The lowest amount for control group (without processing) was 21.42 mg/dl and the highest amount for 3 was 12.22 mg/dl by adding Mycofix-Plus to the diet (0.05 mg/dl).The results also showed a significant increase in the concentrations of total volatile fatty acids, except treatment 4 as compared with control ($P<0.05$). In addition to the other treatments, the ratio of total volatile fatty acids increased significantly in the other treatments ($P<0.05$). The highest amount of fatty acids among the treatments was in treatment 3 treated with Mycofix Plus supplement (93.17 mmol/lit) while the total fatty acids in the control treatment was 91.27 mmol / lit. The amount of total fatty acid in treatment 4, was 90.63 (mmol/lit) which showed a significant decrease compared to control ($P<0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that processing of apple pomace with adsorbent and inactivating compounds of Mycofix-Plus and Bio-Tox additives of the above commercial adsorbents to apple pomace used in diets with high levels of pomoly reduced the toxins of patulin and diazinon. Some of the parameters and parameters of the rumen are animalized and in addition to ensuring the health of the animal will increase efficiency and function. Therefore, considering the presence of levels beyond the standard of these pesticides in apple pomace silo, it can be concluded that the use of pesticide adsorbents when using high levels of apple pomace in the diet to ensure no effect Negative on the body's metabolism and non-transfer to milk is essential. Generally reducing the patulin and diazinon toxicity by processing with adsorbent and compounds of toxins in diets with high-level of apple pomace can improve some of the animal's rumen parameters, and, in addition to ensuring health, may increase the efficiency and performance of the animal.

Key words: Patulin, Diazinon, Apple pomace, Toxic Adsorbent, Mahabadi Lactation Goats