Journal of Animal Science Research / vol.34 No.4/ 2024/pp 81-92

Investigating the effect of processing with autoclave and centrifuge methods on the nutritional value of dried rumen fluid using spray drying method

H. Abdi Benenmar[1] and F. Rezai Sarteshnizi[2]

Received: September 11, 2023 Accepted: November 18, 2024

[1] Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2] Postdoctoral of Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
[*]Corresponding author: E mail: abdibenemar@uma.ac.ir

Journal of Animal Science Research / vol.34 No.4/ 2024/pp 81-92
https://animalscience.tabrizu.ac.ir

© 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.2024.58541.1720

Introduction: Slaughterhouse rumen fluid contains microbial proteins, volatile fatty acids, microorganisms, vitamins and minerals. Rumen fluid has a very diverse population of bacteria and other microorganisms. Rumen bacteria have a thick bacterial polysaccharide (BPS) coating, so this fluid contains hundreds of bacterial polysaccharide molecules. Rumen fluid activity does not appear to be highly dependent on the diet. Bacterial polysaccharides are potent antigens and remain active even after autoclaving (Muscato et al. 2002). On the other hand, it contains high levels of ammonia and phosphorus, which, when disposed of in slaughterhouses, cause environmental pollution. Its nutrients cause eutrophication when excreted in soil and waterways. It is therefore important to find consistent uses of ruminal fluid (Trit and Schuchardt 1992). The benefits of recycling these wastes are firstly reducing environmental pollution and secondly producing a feed source for ruminants (Mundal et al. 2013). Muscato et al. (2000) suggested the autoclave method at 121°C for 40 minutes to destroy pathogenic microorganisms in the rumen fluid, which prevents the transfer of pathogens and disease-causing agents to healthy animals. Centrifugation can also be used to reduce odors and suspended substances. One of the methods that makes it easier to transport, store, check, and mix and distribute the rumen liquid in small amounts in the feed formulation is to dry it. Spray drying has recently been used to dry biologically active compounds (Tribizenk et al. 1997). It is a simple, fast, and economical technique for obtaining powder from a solution or a liquid suspension (such as an enzyme suspension) (Bajsic and Kranjsevik 2001). This method is widely used in the pharmaceutical and dairy industries to dry milk, whey, antibiotics, vitamins, and enzymes (DeVos et al. 2010). Spray drying changes the liquid to a solid form and causes transport, storage, easy examination, and uniform mixing and distribution in food formulations in small amounts (Tan et al. 2005). Therefore, this research will investigate the effect of processing with autoclave and centrifuge methods on the nutritional value of dried rumen liquid using a spray dryer.

Materials and methods: The rumen fluid was taken from the slaughterhouse to the laboratory and was smoothed using a 4-layer linen cloth. From an unprocessed rumen fluid sample, one sample was autoclaved at 121°C for 40 minutes to prevent pathogen transmission, another sample of rumen fluid was centrifuged for 10 minutes at a speed of 1000 rpm to separate the suspended material and reduce its odor. The other sample was first autoclaved and then centrifuged. Finally, all samples were dried by spray drying method. Therefore, experimental treatments include: 1- fresh rumen fluid (FRF); 2-

fresh rumen fluid dried by spray drying method (SFRF); 3- fresh rumen fluid autoclaved and dried by spray drying method (SAFRF); 4 - Fresh rumen fluid centrifuged and dried by spray drying method (SCFRF); 5- Fresh rumen fluid was autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method (SCAFRF). AOAC (2000) method was used to determine the chemical composition (percentage of dry matter, crude protein, ether extract and ash) in the tested samples. The method of Agarwal et al. (2000) was used to determine the concentration of carboxymethylcellulase, microcrystalline cellulose, amylase and filter paper activity. A gas chromatography device (Varian Inc., Walnut Creek, Canada) was used to measure the concentration of volatile fatty acids in it. The concentration of macro and micro elements and heavy metals, after removing ash from the samples, was determined with an inductively coupled plasma emission spectrometer (Genesis model, manufactured by Spectro, Germany).

Results and discussion: There is a statistically significant difference between fresh rumen liquid and rumen liquid autoclaved and centrifuged and dried by spray drying method in terms of chemical compounds (P<0.01). So far, there is no report about the processes of autoclaving and centrifugation on the chemical composition of dried rumen fluid. In a report, they reported 5.83, 15.52, 5.17, and 11 percent of moisture, crude protein, ether extract, and ash in the dried digestate of slaughtered sheep, respectively (Sakaba et al. 2017). Although the increase in the percentage of dry matter and crude protein is not important for a feed additive in livestock, but this increase shows that these processes did not reduce the chemical compounds of the rumen liquid. The activity of carboxymethylcellulase, avisalase, amylase and filter paper enzyme activity was the highest in rumen liquid dried by spray drying method (P<0.01) and the lowest in rumen liquid autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method. In this research, autoclaving was used to destroy pathogenic microorganisms in rumen fluid and centrifugation was used to remove suspended substances and reduce odor. It is expected that by autoclaving at 121°C for 40 minutes, the activity of enzymes will decrease to zero due to their protein nature, but the autoclaved treatments had more enzyme activity than the centrifuged one, and even with autoclaving and centrifugation, the activity of polysaccharides degrading enzymes have not reached zero. The concentration of volatile fatty acids was significantly affected by autoclave and centrifugation processes. In this research, centrifugation increased the concentration of volatile fatty acids in several cases and even autoclaving did not have a statistically significant difference with fresh rumen fluid in several cases The concentration of mineral elements was significantly affected by the treatments. By using autoclave and centrifuge methods, the concentration of most measured minerals increased significantly. Yu et al. (2013) reported that the rumen fluid is rich in mineral elements and can be used as an additive, so by autoclaving and centrifuging, the concentration of most mineral elements increases, and on the other hand, pathogenic microorganisms and suspended substances and odor also decreases.

Conclusion: According to the obtained results, the autoclaving process was effective in eliminating the pathogenic microorganisms of the rumen fluid. With centrifuge-autoclave processes, the various enzymes were still active. The use of the centrifugation process was more effective than autoclave in maintaining the concentration of volatile fatty acids. Also, autoclave processing reduced the concentration of volatile fatty acids that have a low boiling point, and the simultaneous use of these two processes increased the concentration of most volatile fatty acids compared to fresh rumen fluid. Also, using these two processes, the concentration of most of the **macro and micro elements** increased. Therefore, centrifugation and autoclaving are recommended to remove suspended substances, reduce odor, and also eliminate pathogenic microorganisms in the rumen fluid.

Key words: autoclaving, centrifugation, slaughterhouse rumen liquid, drying, spray drying method

مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۴ شماره ۴/ سال۱۴۰۳/ صفحات ۸۱ تا ۹۲
DOI: 10.22034/as.2024.58541.1720

بررسی اثر فرآیند کردن با روش‌های اتوکلاو و سانتریفیوژ بر ارزش تغذیه‌ای مایع شکمبه خشک شده با استفاده از روش خشک کردن پاششی

حسین عبدی بنمار[1]، فریبا رضائی سرتشنیزی[2]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۸

[1]استاد گروه علوم دامی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[2] پسا دکتری دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
مسئول مکاتبه: Email: Abdibenemar@uma.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: با توجه به تولید مقادیر زیادی مایع شکمبه در کشتارگاه‌ها و اثرات آن بر محیط زیست، با عمل فرآوری می‌توان علاوه بر حذف آلودگی زیست محیطی آن، امکان تولید یک افزودنی خوراکی جهت استفاده در تغذیه دام را فراهم کرد. **هدف**: از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مواد معلق و همچنین کاهش بو با روش‌های اتوکلاو و سانتریفیوژ و همچنین بررسی ارزش تغذیه‌ای آن بعد از این انجام فرآیندها می‌باشد. **روش کار**: مایع شکمبه **از** کشتارگاه گرفته شده و بعد **از** صاف کردن اتوکلاو و سانتریفیوژ شده و با روش خشک کردن پاششی خشک گردید. بنابراین تیمارها شامل: ۱- مایع شکمبه تازه (FRF)؛ ۲ -مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SFRF)؛ ۳- مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن (SAFRF)؛ ٤- مایع شکمبه تازه سانتریفیوژ شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SCFRF) و ٥- مایع شکمبه تازه اتوکلاو، سانتریفیوژ شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SCAFRF) بودند. **نتایج:** بین مایع شکمبه تازه و مایع شکمبه اتوکلاو و سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی از نظر ترکیبات شیمیایی تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۱). فعالیت آنزیم‌های کربوکسی متیل سلولاز، آویسلاز، آلفا آمیلاز و فعالیت آنزیمی تجزیه‌کنندگی کاغذ صافی در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود (P<۰/۰۱). غلظت اسید بوتیریک، ایزو بوتیریک، والریک و ایزووالریک نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اتوکلاو و سانتریفیوژ کردن قرار گرفت (P<۰/۰۱). فرآیند سانتریفیوژ در افزایش غلظت اسیدهای چرب فرار نسبت به اتوکلاو مؤثرتر بوده است (P<۰/۰۱). غلظت عناصر پر نیاز و کم‌نیاز نیز تحت تأثیر فرآیندهای اتوکلاو و سانتریفیوژ قرار گرفت (P<۰/۰۱). **نتیجه‌گیری کلی**: با اتوکلاو و سانتریفیوژ کردن مایع شکمبه ارزش تغذیه‌ای آن تا حدودی حفظ شده و برای کاهش میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و کاهش بوی این مایع قابل توصیه هستند.

واژگان کلیدی: اتوکلاو کردن، سانتریفیوژ کردن، مایع شکمبه کشتارگاهی، خشک کردن، روش خشک کردن پاششی

مقدمه

در کشتارگاه‌ها، فرآورده‌های جانبی متعددی نظیر خون، پوست، روده، چربی و غیره... وجود دارند که همگی در صنایع مختلف کاربرد دارند. در حال حاضر تنها فرآورده جانبی‌ای که در کشتارگاه با وجود مواد مغذی بالا مشکل آفرین شده، محتویات شکمبه دام‌های کشتاری است.

روزانه مقادیر زیادی محتویات شکمبه به عنوان محصولات جانبی در کشتارگاه‌ها تولید می‌شوند (سد و همکاران ۲۰۱۵). این محتویات در شکمبه که اولین قسمت معده نشخوارکنندگان است و حدود ۸۰ درصد ظرفیت معده نشخوارکنندگان بالغ را تشکیل می‌دهد، تولید می‌شوند (ابوحیف و همکاران ۱۹۹۹). تقریباً ۳/۵-۲/۷ کیلوگرم (بر اساس ماده خشک) محتویات شکمبه‌ای از گاو در طول کشتار بدست می‌آید (ریوس رینکون و همکاران۲۰۱۰). مقدار محتویات شکمبه با نوع حیوان نشخوارکننده و وزن بدن آن متفاوت بوده و مقدار متوسط آن بین ۱۰ کیلوگرم در هر حیوان برای نشخوارکنندگان کوچک و ٤٠ کیلوگرم برای نشخوارکنندگان بزرگ متغیر است (افاضلی و همکاران ۲۰۱٤ و ابدیشاهیان و همکاران ۲۰۱٦). در هر مترمکعب از محتویات شکمبه، ۰/٦-۰/۵ مترمکعب فاز مایع وجود دارد. از طرف دیگر مایع شکمبه شامل سطوح بالایی از آمونیاک و فسفر است که دفع آن به محیط زیست باعث آلودگی خواهد شد. بعلاوه، راهیابی مواد مغذی آن به خاک و راه‌های آبی باعث غنی شدن[1]آن‌ها می‌شود که رشد برخی موجودات را محدود می‌کند. از این‌رو یافتن یک روش برای استفاده مداوم مایع شکمبه می‌تواند مهم باشد (تریت و اسچوچاردت ۱۹۹۲). مزایای بازیافت این ضایعات در درجه اول کاهش آلودگی محیط زیست و سپس تولید یک ماده خوراک برای نشخوارکنندگان است (موندال و همکاران ۲۰۱۳).

یو و همکاران (۲۰۱۳) پیشنهاد دادند که مایع شکمبه می‌تواند به عنوان یک منبع آنزیمی بکار رود به طوریکه شامل آنزیم‌های میکروبی مانند زایلاناز، گالاکتوزیداز، سلولاز، همی سلولاز و آلفا آمیلاز است که کربوهیدرات‌های پیچیده را می‌شکنند. همچنین مایع شکمبه شامل میکروارگانیسم‌های مختلفی مانند باکتری‌ها، پروتوزوا و قارچ‌ها است و یک منبع متابولیت‌های میکروبی مانند پروتئین میکروبی، آنزیم‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب فرار، ویتامین‌ها و مواد معدنی است.

موسکاتو و همکاران (۲۰۰۰) برای از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیمای‌زا در مایع شکمبه روش اتوکلاو را در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٠ دقیقه پیشنهاد دادند که این کار از انتقال پاتوژن‌ها و عوامل بیماری‌زا به دام‌های سالم جلوگیری می‌کند.

یکی از روش‌هایی که باعث حمل و نقل، ذخیره، بررسی آ سان و مخلوط کردن و توزیع یکسان مایع شکمبه در فرمولاسیون خوراک و در مقادیر کم می‌شود، خشک کردن آن است. روش خشک کردن پاششی، به طور گسترده‌ای در صنایع دارو سازی و صنایع مربوط به شیر برای خشک کردن شیر، آب پنیر، آنتی‌بیوتیک‌ها، ویتامین‌ها و آنزیم‌ها به‌کار می‌رود (دیووس و همکاران۲۰۱۰). مزیت اصلی این روش این است که موادی که به صورت محلول سوسپانسیون یا امولسیون هستند، در یک فرآیند یک مرحله‌ای بوسیله تبخیر رطوبت به پودر تبدیل می‌شوند (نمالدی و همکاران ۲۰۰٦). روش خشک کردن پاششی به علت زمان کوتاه خشک کردن و درجه حرارت نسبتاً کوتاه، به طور موفقیت آمیزی برای مواد حساس به حرارت استفاده شده است (نمالدی و همکاران ۲۰۰٦). بنابراین در پژوهش حاضر اثر فرآوری با روش های اتوکلاو و سانتریفیوژ بر ارزش تغذیه‌ای مایع شکمبه خشک شده بررسی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

ابتدا مایع شکمبه از کشتارگاه تهیه و داخل یک فلاسک آب ولرم به آزمایشگاه منتقل شد. سپس، مایع شکمبه حاوی مواد هضمی به وسیله یک مخلوط کن به مدت ۲ دقیقه ضمن تزریق گاز دی اکسید کربن مخلوط و با

[1] Eutrophication

استفاده از یک پارچه توری و یک پارچه کتانی ٤ لایه صاف گردید. یک نمونه مایع شکمبه بدون فرآوری، یک نمونه برای جلوگیری از انتقال عوامل بیماری‌زا به مدت ٤٠ دقیقه در دمای ١٢١ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد و یک نمونه دیگر مایع شکمبه برای جدا کردن مواد معلق و کاهش بوی آن به مدت ١٠ دقیقه با سرعت ١٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نمونه دیگر ابتدا اتوکلاو و سپس سانتریفیوژ شد. درنهایت، همه نمونه‌ها با روش خشک کردن پاششی خشک شدند. بنابراین تیمارهای آزمایشی شامل: ١- مایع شکمبه تازه (FRF)؛ ٢ -مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SFRF)؛ ٣- مایع شکمبه تازه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SAFRF)؛ ٤- مایع شکمبه تازه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SCFRF) و ٥- مایع شکمبه تازه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی (SCAFRF) بودند. میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شامل *اشرشیاکلای، کلبسیلا پنومونیا، پروتئوس، سودوموناس آئروژینوزا، کلی‌فرم‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس غیر اورئوس، استرپ آگالاکتیه، استرپ اوبریس، استرپ دیس آگالاکتیه* با کشت در محیط‌هایی با غلظت مختلف در مایع شکمبه اتوکلاو شده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی شمارش شدند. جهت تعیین ترکیبات شیمیایی (درصد ماده خشک، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر) در نمونه های مورد آزمایش از روش AOAC (٢٠٠٠) استفاده شد. برای تعیین غلظت آنزیم‌های سلولاز، آمیلاز و فعالیت آنزیمی تجزیه‌کنندگی کاغذ صافی از روش آگاروال و همکاران (٢٠٠٠) استفاده شد. بدین منظور برای تعیین فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، ٠/٥ میلی‌لیتر از نمونه با ٠/٥ میلی‌لیتر محلول کربوکسی متیل سلولز (١ گرم کربوکسی سلولز در ١٠٠ میلی لیتر آب مقطر حل شد) و ١ میلی‌لیتر بافر فسفات ٠/١ نرمال با pH= ٦/٨ به طور کامل مخلوط شد. فعالیت میکروکریستالین سلولاز (آویسلاز) بوسیله مخلوط کردن ١ میلی لیتر محلول نمونه با ١ میلی لیتر محلول میکروکریستالین سلولز (١ گرم آویسل در ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر) و ١ میلی‌لیتر بافر فسفات ٠/١ نرمال با pH= ٦/٨ تعیین شد. مخلوط ها برای ٦٠ دقیقه در ٣٩ درجه سانتیگراد در حمام بنماری نگه داشته شدند. برای تعیین فعالیت آلفا آمیلاز، ٠/٢٥ میلی‌لیتر نمونه به طور کامل با ٠/٥ میلی لیتر از بافر فسفات ٠/١ نرمال با pH=٦/٨ و ٠/٢٥ میلی‌لیتر محلول نشاسته (١ گرم نشاسته در ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر) مخلوط و به مدت ٣٠ دقیقه در دمای ٣٩ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. برای تعیین فعالیت آنزیمی کاغذ صافی ٠/٥ گرم کاغذ صافی، با ١ میلی بافر فسفات با pH=٦/٨ و ١ میلی لیتر نمونه مخلوط و در دمای ٣٩ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و جذب در طول موج ٥٧٠ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شد. وقتی فعالیت آنزیم‌های مختلف تیمارها تعیین شدند، فعالیت آنزیم‌های مختلف تیمارها نسبت به مایع شکمبه تازه سنجیده شد.

برای تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار تیمارها از روش اوتنستین و بارلی (١٩٧١) استفاده شد که با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC-PU4410-PHILIPS-Netherlands) انجام شد. بدین منظور نمونه‌ها با یک میلی‌لیتر متافسفریک اسید ٢٥ درصد تثبیت و تا تعیین غلظت اسیدهای چرب فرار در دمای ٢٠- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. قبل از تعیین مقدار کمی اسیدهای چرب فرار، نمونه‌ها در ٤ درجه سانتی‌گراد ذوب شدند و بعد از آن مواد جامد با سانتریفیوژ (دور ٣٠٠٠ به‌مدت ١٠ دقیقه) جدا شدند. یک میلی‌لیتر از مایع رویی به ٠/١ میلی‌لیتر استاندارد داخلی (٢ اتیل بوتیریک اسید) اضافه شد و با دور ١٠٠٠٠ و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ١٥ دقیقه سانتریفیوژ شد و یک میکرولیتر از این محلول به واریان ٣٤٠٠ کروماتوگراف گازی مجهز به انژکتور در ١٧٠ درجه سانتی‌گراد، دتکتوور یونیزاسیون شعله در ١٧٥ درجه سانتی‌گراد و یک ستون بسته بندی تزریق شد. دمای اجاق گاز کروماتوگرافی ١٤٠ درجه سانتی

گراد حفظ شد. سرعت جریان گاز نیتروژن، ٤٠ میلی‌لیتر در دقیقه و هوای فشرده ، ۳۰۰ میلی‌لیتر در دقیقه بود. به منظور تعیین عناصر معدنی پر نیاز، کم نیاز و فلزات سنگین، بعد خاکستر گیری از نمونه‌ها، از روش هضم نمونه در دمای ۱۵۰درجه سیلسیوس در محلول هیدروکلریدیک اسید و اسید نیتریک استفاده شد. محلول حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و سپس به دستگاه طیف سنج نشری پلاسمای جفت شده القایی[۲] (مدلGenesis ساخت شرکتSpectro آلمان) تزریق شد و غلظت عناصر تعیین گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمامی داده‌های آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی و توسط نرم افزار SAS نسخه (٩/٤) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مدل آماری طرح به صورت زیر است:

(رابطه ۱)

$$Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$$

در این مدل Y_{ij}= نشان‌دهنده هر مشاهده در آزمایش است. μ میانگین جامعه برای صفت مورد نظر، T_i اثر هر تیمار و e_{ij}= اثر خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

داده‌های مربوط به تعداد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مایع شکمبه اتوکلاو شده و نشده و خشک شده با روش خشک کردن پاششی در جدول ۱ نشان داده شده است. با اتوکلاو کردن تعداد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا به صفر رسید. موسکاتو و همکاران (۲۰۰۲) نیز برای از بین بردن پاتوژن‌های بیماری‌زا در مایع شکمبه اتوکلاو کردن را پیشنهاد کردند و با استفاده از مایع شکمبه اتوکلاو شده نتایج مثبتی در افزایش وزن و کاهش اسهال مشاهده نمودند.

Table 1- Number of pathogenic microorganisms in rumen fluid before and after autoclaving and drying by spray drying method

Number of microorganism (cfu/gr)	Treatments[1]	
	SFRF	SAFRF
Escherichia coli	<3	0.0
Klebsiella pneumonia	0.0	0.0
Proteus	0.0	0.0
Pseudomonas aeruginosa	0.0	0.0
Coliform	<3	0.0
Staphylococcus aureus	2.5×10^2	0.0
Non-aureus staphylococcus	5×10^2	0.0
Strep agalactiae	0.0	0.0
Strep disagalactia	25	0.0
Strep Obris	15	0.0
Total	3.8×10^2	0.0

[1]The treatments include SFRF: Fresh Rumen Fluid Dried by Spray Drying Method and SAFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method

در جدول ۲ ترکیبات شیمیایی مایع شکمبه فرآیند شده با روش‌های اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک کردن با روش خشک کردن پاششی آورده شده است. بیشترین درصد ماده خشک مربوط به مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بود و کمترین درصد مربوط به مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بود ($P<۰/۰۱$). درصد پروتئین خام به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت. بیشترین درصد پروتئین خام مربوط به مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی و کمترین آن مربوط به مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بود. درصد عصاره اتری در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی و مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود و در مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی و مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمترین بود ($P<۰/۰۱$). بیشترین درصد خاکستر مربوط به مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی و مایع شکمبه سانتریفیوژ، اتوکلاو

[۲] Inductively Coupled Plasma−Atomic Emission Spectrometer

و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بود و کمترین درصد آن مربوط به مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بود (P<۰/۰۱). تاکنون گزارشی در مورد فرآیندهای اتوکلاو و سانتریفیوژ بر ترکیبات شیمیایی مایع شکمبه خشک شده وجود ندارد.

در گزارشی درصد رطوبت، پروتئین خام، عصاره اتری و خاکستر در مواد هضمی خشک شده از گوسفندان کشتار شده به ترتیب ۵/۸۳، ۱۵/۵۲، ۵/۱۷ و ۱۱ درصد بیان شده است (ساکابا و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین در تحقیق دیگری محتویات شکمبه گاوی خشک شده در آفتاب دارای ۸۵/۳۶ درصد ماده خشک، ٦/٨٦ درصد پروتئین خام، ۱/۲۲ درصد عصاره اتری و ۲۱/٥٤ درصد خاکستر بودند (گبرهاواریاتو همکاران ۲۰۱٦) که تفاوت‌های موجود می‌تواند به دلیل تنوع پوشش گیاهی و جیره مصرفی توسط نشخوارکنندگان مختلف در مکان‌های مختلف باشد. این تنوع همچنین می‌تواند به دلیل ترکیبات شیمیایی مرتع و گونه‌های حیوانی مختلف باشد (گبرهاواریاتو همکاران ۲۰۱٦). از آنجایی که در این پژوهش فرآیند اتوکلاو و سانتریفیوژ صورت گرفته است، بنابراین این فرآیندها با تغلیظ مایع شکمبه باعث افزایش درصد ماده خشک و درصد خاکستر شدند. همچنین درصد پروتئین خام و عصاره اتری نیز با اتوکلاو کردن و بنابراین تغلیظ شدن افزایش یافت. اگرچه افزایش درصد ماده خشک و پروتئین خام برای یک افزودنی خوراکی در دام دارای اهمیت نمی‌باشد، ولی این افزایش نشان می‌دهد که این فرآیندها باعث کاهش ترکیبات شیمیایی مایع شکمبه نشدند.

Table 2-Proximate analysis of ruminal fluid centrifuged and autoclaved and dried by spray drying method

	Treatments[1]				SEM	p-value
	SFRF	SAFRF	SCFRF	SCAFRF		
Dry matter	84.44[c]	86.14[b]	90.93[a]	86.04[b]	0.265	<.0001
Crude Protein	24.17[b]	25.66[a]	20.28[d]	22.43[c]	0.103	<.0001
Ether Extract	2.91[a]	2.82[a]	1.7[b]	1.60[b]	0.113	<.0001
Ash	32.40[a]	26.15[c]	29.28[b]	31.73[a]	0.255	<.0001

[1]Treatments included SFRF: Freshly dried rumen liquid by spray drying method, SAFRF: Fresh Rumen Fluid Autoclaved and Dried by Spray Drying Method, SCFRF: Fresh rumen liquid was centrifuged and dried by spray drying method, SCAFRF: Fresh rumen fluid autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method.

فعالیت آنزیم‌های مختلف تیمارهای آزمایشی به‌صورت درصدی از فعالیت مایع شکمبه تازه در جدول ۳ گزارش شده است. مایع شکمبه تازه دارای ۲۷٤/۷۹ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، ۲۵/۸۸ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر میکروکریستاین سلولاز، ۸۷۹/۱۰ واحد بین المللی در میلی‌لیتر آلفا آمیلاز و ۱۷۳/۰۰ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر فعالیت آنزیمی کاغذ صافی است (رضائی سرتشنیزی و همکاران ۲۰۱۸). یو و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که مایع شکمبه می‌تواند به عنوان منبعی آنزیمی به‌کار رود. فعالیت کربوکسی متیل سلولاز، آویسلاز، آلفا آمیلاز و فعالیت آنزیمی تجزیه‌کنندگی کاغذ صافی در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود (P<۰/۰۱) و در مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمترین بود. انتظار می‌رود که با فرآیند اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۰ دقیقه فعالیت آنزیم‌ها به خاطر ماهیت پروتئینی آن‌ها به صفر برسد، ولی تیمارهای اتوکلاو شده نسبت به سانتریفیوژ شده فعالیت آنزیمی بیشتری داشتند و حتی با فرآوری با اتوکلاو و سانتریفیوژ فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پلی ساکاریدها به صفر نرسیده است.

Table 3- Activity of the main enzymes (U/ml) that degrade polysaccharides of the experimental treatments as a percentage of fresh rumen fluid

Parameters	Treatments[1]				SEM	p-value
	SFRF	SAFRF	SCFRF	SCAFRF		
Carboxymethylcellulase	55.64[a]	40.19[b]	21.23[c]	16.21[d]	0.33	<.0001
Microcrystalline cellulose	44.43[a]	28.53[b]	12.62[c]	8.61[d]	0.66	<.0001
alpha-Amylase	32.83[a]	26.98[ab]	20.75[b]	9.62[c]	0.60	<.0001
Ftpase	86.53[a]	70.33[b]	63.28[c]	58.67[d]	0.52	<.0001

[1]Treatments included SFRF: Freshly dried rumen liquid by spray drying method, SAFRF: Fresh rumen liquid autoclaved and dried by spray drying method, SCFRF: Fresh rumen liquid was centrifuged and dried by spray drying method, SCAFRF: Fresh rumen fluid autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method.

غلظت اسیدهای چرب فرار تیمارهای مختلف در جدول ٤ آورده شده است. غلظت اسیدهای چرب فرار به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P<۰/۰۱). غلظت اسید استیک در مایع شکمبه تازه بیشترین و در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمترین بود (P<۰/۰۱). غلظت اسید پروپیونیک در مایع شکمبه تازه بیشترین و در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمترین بود و این تیمار با تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۱). غلظت اسید بوتیریک در مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده به روش خشک کردن پاششی بیشتر بود و این تیمار با تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت معنی‌داری نداشت. غلظت اسید بوتیریک در مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمتر بود که با تیمار مایع شکمبه تازه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۱). مقدار ایزووالریک اسید در مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود و در تیمار مایع شکمبه تازه کمتر بود و مایع شکمبه تازه با مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (P<۰/۰۱). والریک اسید در مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر از بقیه تیمارها بود (P<۰/۰۱).

اسیدهای چرب فرار (VFAs) به عنوان محصولات اصلی هضم بی هوازی ضایعات کشاورزی هستند (وانگ و همکاران، ۲۰۱٦). محصولات مورد نظر در این مطالعه اسیدهای آلی شامل اسیدهای استیک، پروپیونیک، بوتیریک، ایزووالریک و والریک هستند که اسیدهای چرب فرار نامیده می‌شوند. قبلاً گزارش شده است که مایع شکمبه حاوی باکتری‌های اسیدوژنیک است که قادر به تولید VFA با تجزیه مواد گیاهی هستند (یو و همکاران، ۲۰۱۳). یو و همکاران (۲۰۱۳) قبلاً پیشنهاد دادند که می‌توان از مایع شکمبه به طور مستقیم به عنوان منبع VFA استفاده کرد و برای استفاده از آن، فرآیند استخراج یا تغلیظ را پیشنهاد کردند. در این پژوهش نیز به جز غلظت اسید استیک و پروپیونیک فرآیندهای اتوکلاو و سانتریفیوژ کردن غلظت دیگر اسیدهای چرب فرار را افزایش دادند ولی غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک نیز با این فرآیندها به صفر نرسید. با توجه به اهمیت غلظت VFAها در مایع شکمبه، اگر از آن به عنوان منبع اسیدهای چرب فرار استفاده شد، باید فرآوری‌ها به گونه‌ای باشد که منجر به از بین رفتن VFAها نشود. اسیدهای چرب فراری مانند اسیدهای استیک، پروپیونیک، بوتیریک به طور گسترده‌ای به عنوان اسیدی کننده‌های جیره در تغذیه دام و طیور استفاده می‌شوند. اسیدهای استیک و پروپیونیک به دلیل اثرات کاهش pH آنها در دستگاه گوارش، مانند اسیدی کننده‌های تجاری عمل می‌کنند. در نتیجه کلونیزاسیون دستگاه گوارش توسط پاتوژن‌ها را سرکوب می‌کنند (خان و ایگبال، ۲۰۱٦). نشان داده شد که اسید بوتیریک در هنگام تغذیه به نشخوارکنندگان شیرخوار، اثرات مفیدی بر رشد شکمبه نشان می‌دهد (گورکا و همکاران،

۲۰۱۱). همچنین مکمل خوراک با اسید والریک یا ایزووالریک از رشد باکتری‌های سلولولیتیک در شکمبه حمایت می‌کنند که منجر به هضم بهتر فیبر توسط حیوانات می‌شود (آندریس و همکاران ۱۹۸۷). در پژوهش حاضر با توجه به این‌که اسید استیک و پروپیونیک نقطه جوش کمی دارند، تحت تأثیر فرآیندهای اتوکلاو و روش خشک کردن پاششی قرار گرفتند و غلظتشان کاهش یافت. نقطه جوش اسید بوتیریک ۱۶۳/۵ درجه سانتی‌گراد است. با توجه به این‌که در اتوکلاو کردن دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌کار رفته بود، لذا به دلیل نقطه جوش بالای اسید بوتیریک، غلظت این اسید تحت تأثیر دمای اتوکلاو قرار نگرفت. با توجه به این نتایج فرآیند سانتریفیوژ نسبت به اتوکلاو کردن در حفظ اسیدهای چرب فرار موفق‌تر عمل کرده است. حتی اتوکلاو کردن نیز در چند مورد با مایع شکمبه تازه تفاوت آماری معنی‌دار نداشته است و تنها غلظت اسیدهای چرب فراری که نقطه جوش کمتری یا مساوی با دمای اتوکلاوکردن داشتند، کاهش یافت.

Table 4-Content of the individual VFAs of the experimental treatments

Parameters	Treatments[1]					SEM	p-value
	FRF	SFRF	SAFRF	SCFRF	SCAFRF		
VFAs (concentration, m M/L)							
Acetic acid	41.43[a]	7.91[c]	4.85[e]	15.01[b]	6.09[d]	0.29	<.0001
Propionic acid	8.49[a]	1.64[c]	0.53[d]	5.19[b]	1.05[cd]	0.23	<.0001
Butyric acid	5.68[c]	5.05[c]	13.82[b]	41.25[a]	41.25[a]	0.50	<.0001
iso-Valeric acid	1.27[c]	1.47[c]	3.28[b]	10.17[a]	3.52[b]	0.26	<.0001
Valeric acid	1.48[b]	1.26[b]	1.36[b]	3.22[a]	1.71[b]	0.25	<.0001

[1]Treatments included FRF: Fresh Rumen Fluid, SFRF: Freshly dried rumen liquid by spray drying method, SAFRF: Fresh rumen liquid autoclaved and dried by spray drying method, SCFRF: Fresh rumen liquid was centrifuged and dried by spray drying method, SCAFRF: Fresh rumen fluid autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method.

غلظت عناصر پرنیاز و کم نیاز تیمارها در جدول ۵ آورده شده است. غلظت عناصر پرنیاز و کم نیاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت (P<۰/۰۱). غلظت عنصر کلسیم به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین غلظت منیزیم را داشت (P<۰/۰۱). غلظت عنصر فسفر در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود(P<۰/۰۱). غلظت عنصر نقره در مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود (P<۰/۰۱) که این تیمار با تیمار مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. همچنین در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با خشک کردن پاششی کمتر بود (P<۰/۰۱) و این تیمار با تیمار مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. غلظت عناصر آلومینیوم و آهن در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن بیشتر بود (P<۰/۰۱) که این تیمار با تیمار مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌دار نداشت و در تیمار مایع شکمبه سانتریفیوژ، خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمتر بود (P<۰/۰۱) و این تیمار با تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. مایع شکمبه تازه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین غلظت کروم، منگنز و نیکل را داشت (P<۰/۰۱). غلظت عنصر مس در مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود (P<۰/۰۱). مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی غلظت مولیبدن بیشتری داشت (P<۰/۰۱) که با تیمار مایع شکمبه

اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌دار نداشت (P<۰/۰۱). همچنین در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمترین بود (P<۰/۰۱). غلظت روی در تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشترین بود (P<۰/۰۱). غلظت سرب در تیمار مایع شکمبه خشک شده با روش خشک کردن پاششی بیشتر بود (P<۰/۰۱) و این تیمار تفاوت معنی‌داری با مایع شکمبه اتوکلاو و خشک شده با روش خشک کردن پاششی نداشت و در تیمار مایع شکمبه سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی کمتر بود (P<۰/۰۱) و این تیمار با تیمار مایع شکمبه اتوکلاو، سانتریفیوژ و خشک شده با روش خشک کردن پاششی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت.

در تحقیقی مقادیر عناصر سدیم، پتاسیم، منیزیم، کلسیم و فسفر به ترتیب در مواد هضمی شکمبه خشک شده در آفتاب در گوسفند ۱۹/۹۸، ٤/۷۳، ۰/٤۲، ۰/٤٥ و ٤/۷۳ درصد گزارش شده است (ساکابا و همکاران، ۲۰۱۷). غلظت سدیم (۰/۱۲)، پتاسیم (۲)، منیزیم (۳/۲)، روی (٦/٥)، منگنز (۲/٤)، کلسیم (۷)، آهن (۷/۸)، مس (۳/٥) و فسفر (۸/۷) در مواد هضمی خشک شده گاو گزارش شد (آگبابیاکا و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین غلظت این عناصر در مواد هضمی خشک شده بز به ترتیب ۰/۱٤، ۲، ۳/۳، ۷/۲، ۲/٥، ۹/۲، ۷/٤، ٦/۹ و ۹/٥ درصد گزارش شد و در مواردی که این مواد هضمی از نظر عناصر معدنی کمبود دارد و باید مکمل مواد معدنی در جیره استفاده شود (آگبابیاکا و همکاران ۲۰۱۲).

در این پژوهش فرآیندهای سانتریفیوژ و اتوکلاو کردن غلظت اکثر عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز را افزایش دادند. یو و همکاران (۲۰۱۳) و الفاکی و ابدلاتی (۲۰۱۵) گزارش کردند که مایع شکمبه غنی از عناصر معدنی است و می‌تواند به عنوان یک افزودنی بکار رود، بنابراین با سانتریفیوژ و اتوکلاوکردن نیز غلظت اکثر عناصر معدنی افزایش می‌یابد و از طرفی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مواد معلق و بو نیز کاهش می‌یابد.

Table 5- The concentration of macroelements and microelements in experimental treatments

Parameters	Treatments[1]					
	SFRF	SAFRF	SCFRF	SCAFRF	SEM	P-value
high-requirement mineral elements (grams per kilogram of dry matter)						
Calcium	5.096	4.311	5.500	5.453	0.31	0.08
Magnesium	2.696[c]	2.467[d]	5.045[a]	4.596[b]	0.05	<.0001
Phosphorus	0.117[d]	0.886[c]	5.967[b]	7.534[a]	0.09	<.0001
Low-requirement mineral elements (mili gram per kilogram of dry matter)						
Silver	0.199[b]	0.194[b]	0.498[a]	0.649[a]	0.04	<.0001
Aluminium	473.024[a]	630.171[a]	179.932[b]	245.254[b]	49.38	<.0001
Chrome	3.892[a]	2.793[b]	2.402[b]	1.460[c]	0.19	<.0001
Copper	6.540[b]	8.320[a]	6.012[b]	6.020[b]	0.22	<.0001
Iron	367.122[a]	426.745[a]	166.912[b]	168.310[b]	18.50	<.0001
Manganese	40.741[a]	34.644[b]	18.066[c]	9.781[d]	0.59	<.0001
Molybdenum	0.602[b]	0.345[c]	0.999[a]	0.922[a]	1.85	<.0001
Nickel	4.279[a]	3.402[b]	3.586[ab]	3.061[b]	0.23	<.0001
Zinc	84.836[b]	51.043[b]	80.307[b]	784.990[a]	12.86	<.0001
Lead	2.117[a]	1.974[a]	1.232[b]	1.297[b]	0.101	<.0001

[1]Treatments included SFRF: Freshly dried rumen liquid by spray drying method, SAFRF: Fresh rumen liquid autoclaved and dried by spray drying method, SCFRF: Fresh rumen liquid was centrifuged and dried by spray drying method, SCAFRF: Fresh rumen fluid autoclaved, centrifuged and dried by spray drying method.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده فرآیند اتوکلاو کردن برای ازبین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مایع شکمبه

مؤثر بود. با فرآیندهای سانتریفیوژ و اتوکلاو آنزیم‌های مختلف اندازه‌گیری شده هنوز فعالیت داشتند. استفاده از فرآیند سانتریفیوژ نسبت به اتوکلاو در حفظ غلظت اسیدهای چرب فرار مؤثرتر بود. همچنین فرآوری با اتوکلاو غلظت اسیدهای چرب فراری که نقطه جوش پایینی دارند را کاهش داد و استفاده همزمان این دو فرآیند غلظت اکثر اسیدهای چرب فرار را نسبت به مایع شکمبه تازه افزایش داد. همچنین با استفاده از این دو فرآیند غلظت اکثر عناصر معدنی پر نیاز و کم نیاز افزایش یافت. بنابراین سانتریفیوژ و اتوکلاو کردن برای از بین بردن مواد معلق، کاهش بو و همچنین از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای مایع شکمبه قابل توصیه هستند.

References

Abdeshahian P, Lim JS, Ho WS, Hashim H and Lee CT, 2016. Potential of biogas production from farm animal waste in malaysia. Renewable and Sustainable Energy Reviews 60: 714-723.

Abouheif M, Kraidees M and Al-Selbood B, 1999. The utilization of rumen content-barley meal in diets of growing lambs. Asian Australasian Journal of Animal Science 12(8): 1234-1240.

Agarwal N, Agarwal, I, Kamra DN and Chaudhary LC, 2000. Diurnal variations in the activities of hydrolytic enzymes in different fractions of rumen contents of Murrah buffalo. Journal of Applied Animal Research 18(1): 73-80.

Afazeli, H, Jafari A, Rafiee, S and Nosrati M, 2014. An investigation of biogas production potential from livestock and slaughterhouse wastes. Renewable and Sustainable Energy Reviews 34: 380-386.

Andries JI, Buysse, FX, De Brabander, DL, Cottyn BG, 1987. Isoacids in ruminant nutrition: their role in ruminal and intermediary metabolism and possible influences on performances- A review. Animal Feed Science of Technology 18: 169-180.

AOAC, 2000. Association of official analytical chemists. Official Methods of Analysis. 17th ed., Arlington. VA.

Bajsic I Kranjcevic E, 2001 . Automation of industrial spray dryer. Instrumentation Science and Technology, 29(1): 41-52.

De Vos P, Faas MM, Spasojevic M and Sikkema J, 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal, 20(4): 292-302.

Elfaki MOA and Abdelatti KA, 2015. Nutritive evaluation of rumen content from cattle, camel, sheep and goat. Global Journal of Animal Scientific Research, 3(3): 617-621.

Gebrehawariat E, Animut G, Urge M and Mekasha Y, 2016. Sun-dried bovine rumen content (SDRC) as an ingredient of a ration for White Leghorn Layers. East African Journal of Sciences 10(1): 29-40.

Gorka P, Kowalski, ZM, Pietrzak, P, Kotunia, A, Jagusiak, Zabielski, R, 2011. Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development? Journal of Dairy of Science 94: 3002-3013.

Khan, SH and Iqbal J, 2016. Recent advances in the role of organic acids in poultry nutrition. Journal of Applied Animal Research 44(1): 359-369.

Mondal S, Haldar S, Samanta I, Samanta G and Ghosh TK, 2013. Exploring nutritive potential of undigested rumen contents as an ingredient in feeding of goats. Animal Nutrition and Feed Technology 13(1): 79-88.

Muscato TV, Tedeschi LO and Russell JB, 2002. The Effect of ruminal fluid reparations on the growth and health of newborn, milk-fed dairy calves. Journal Dairy Sciences 8(5): 648-656.

Namaldi A, Calik P and Uludag Y, 2006. Effects of spray drying temperature and additives on the stability of serine alkaline protease powders. Drying Technology 24(11): 1495–1500.

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

Rezai-Sarteshnizi F, Abdi-Benemar H Seifdavati J, Greiner R, Salem A,Z,M, Khalilvandi-Behroozyar, H, 2018. Production of an environmentally friendly enzymatic feed additive for agriculture animals by spray drying abattoir's rumen fluid in the presence of different hydrocolloids. Journal of Cleaner Production 197:870-874.

Rios Rincon FG, Bermudez-Hurtado RM, Estrada-Angulo A, Juarez Reyes AS and Ujol-manriquez CP, 2010. Dried ruminal contents as a substitute for alfalfa hay in growing-finishing diets for feedlot cattle. Journal of Animal and Veterinary Advances 9(10): 1526-1530.

Said IF, Elkhair RMA, Shawky SM, Abdelrahman HA and Elfeki MA, 2015. Impact of feeding dried rumen content and olive pulp with or without enzymes on growth performance, carcass characteristics and some blood parameters of Molar ducks. International Journal of Agricultural Research 4: 2319-2473.

Sakaba AM, Hassan AU, Harande IS, Isgogo MS, Maiyama FA and Danbare BM. 2017. Proximate composition of rumen digesta from sheep slaughtered in Zuru Abattoir, Kebbi State, Nigeria. Journal of Agricultural Science and Practice 2(5): 86-89.

SAS Institute Inc. 2003. SAS/STAT(r) 9.1 user's guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Tan LH, Chan LW and Heng PW, 2005. Effect of oil loading on microspheres produced by spray drying. Journal Microencapsulation 22(3):253–259.

Tritt WP, and Schuchardt F, 1992. Materials flow and possibilities of treating liquid and solid wastes from slaughterhouses in germany. Bioresource Technology 41(3): 235-245.

Wang S, Zhang, G, Zhang, P, Ma, X. Li, F, Zhang, H, Nabi, H.M, 2018. Rumen fluid fermentation for enhancement of hydrolysis and acidification of grass clipping. Journal of environmental management 220: 142-148.

Yue ZB, Li WW and Yu HQ, 2013. Application of rumen microorganisms for anaerobic bioconversion of lignocellulosic biomass. Bioresource Technology 12(8): 738-744.