نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۸ شماره ۲/ سال۱۳۹۷/ صفحات ۲۳ تا ۳۴

اثر تیمارهای شیمیایی و آنزیمی بر ارزش غذایی، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم تفاله گوجه فرنگی در شرایط آزمایشگاهی

داریوش علیپور[1*]، محیا کولیوند[2] و رضا علیمحمدی[2]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۰

[1] دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

[2] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* مسئول مکاتبه: Email: alipourd@basu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: یکی از راه‌های افزایش ارزش غذایی خوراک‌های با کیفیت پایین در دام‌های نشخوار کننده استفاده از روش‌های فیزیکی و شیمیایی برای عمل‌آوری آن‌هاست. **هدف**: این آزمایش جهت بررسی ارزش غذایی و فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم تفاله گوجه فرنگی با اعمال تیمارهای مختلف شیمیایی (اتوکلاو، ۳ درصد اوره و ۳ درصد اوره + اتوکلاو) و آنزیمی (در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. **روش کار**: علاوه بر ترکیبات شیمیایی (ماده خشک، پروتئین خام، دیواره سلولی و خاکستر)، فراسنجه‌های حداکثر تولید گاز، سرعت تولید گاز، زمان تاخیر، قابلیت هضم ماده خشک، قابلیت هضم دیواره سلولی و انرژی قابل متابولیسم اندازه‌گیری شد. **نتایج**: کمترین غلظت پروتئین خام در تیمار شاهد، و بیشترین غلظت آن در تیمار اوره ۳ درصد (به ترتیب ۲۵۶/۸ و ۳۴۳ گرم در کیلوگرم ماده خشک) مشاهده شد (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین غلظت دیواره سلولی نامحلول در شوینده خنثی (دیواره سلولی)، در بین تیمارهای اعمال شده در تیمار شاهد و اتوکلاو مشاهده شد (P<۰/۰۵). تیمار آنزیم یک درصد بالاترین پتانسیل تولید گاز و کوتاه‌ترین فاز تاخیر را در طی ۱۴۴ ساعت انکوباسیون داشت (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار گوارش‌پذیری ماده آلی در تیمار اوره ۳ درصد مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیشترین مقدار گوارش‌پذیری دیواره سلولی و ضریب تفکیک، در تیمار اوره ۳ درصد مشاهده شد، در مقابل بیشترین مقدار توده میکروبی و انرژی قابل متابولیسم مربوط به تیمار آنزیم یک درصد بود. **نتیجه‌گیری کلی**: به‌طورکلی، با در نظر گرفتن شاخص‌هایی مانند قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی، ضریب تفکیک و ترکیب شیمیایی می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که تیمارهای اوره ۳ درصد و آنزیم در سطح یک درصد باعث افزایش قابلیت هضم تفاله گوجه فرنگی شده است.

واژگان کلیدی: تفاله گوجه فرنگی، آنزیم، اوره، تولید گاز آزمایشگاهی، گوارش‌پذیری

مقدمه

بحث دام، گوشت و فرآورده‌های آن از دیر باز به عنوان اصلی‌ترین و بهترین ماده غذایی و منبع تأمین کننده پروتئین حیوانی احتیاجات انسانی مطرح بوده است. با توجه به محدودیت منابع از قبیل آب و خاک، جهت تامین غذای دام باید علاوه بر استفاده از ارقام پر محصول و استفاده از شیوه‌های علمی در تامین خوراک دام، از پسماندهای کشاورزی نیز در تهیه غذای دام بهره شایسته برد. بکاربردن فراورده‌های فرعی و پسماندهای کشاورزی و صنایع وابسته، بدلیل داشتن

مقادیر قابل توجهی از مواد مغذی و با ارزش پروتئینی در تهیه غذای دام میسر می‌باشد. بدین منظور پسماندها را عمل‌آوری کرده یا به طور مستقیم جهت تغذیه دام استفاده می‌نمایند. طیف گسترده‌ای از بقایای گیاهی، پسماندهای محصول و فراورده‌های جانبی با ارزش غذایی مناسب برای خوراک دام و طیور بوده که عمدتاً بعلت عدم وجود زیرساخت‌های مناسب و ناکافی بودن اطلاعات بهره‌برداران مورد توجه چندانی قرار نگرفته‌اند. یکی از این محصولات تفاله گوجه فرنگی حاصل از فرایندهای تولید رب، سس و آب گوجه فرنگی (*Solanum Lycopersicum*) که شامل بذر، پوست و گوشت گوجه فرنگی می‌باشند، از مهمترین پسماندهای سبزی و صیفی می‌باشند که قابل استفاده در جیره غذایی دام و طیور هستند (شکرانی ۲۰۰۸). مقدار تولید تفاله گوجه فرنگی در ایران سالانه ۸۱ هزار تن می‌باشد (نوبخت و صفامهر ۲۰۰۷). تفاله خشک گوجه فرنگی حاوی ۲۲/۶-۲۴/۷٪ پروتئین، ۱۴/۵-۱۵/۷٪ چربی و ۵/۸-۲۰/۲۳٪ فیبر و این محصول جانبی منبع خوبی از ویتامین B1، B2 و A است (آقاجانزاده و همکاران ۲۰۰۸). تفاله گوجه فرنگی به علت تولید در ماه‌های گرم سال و رطوبت بالا و غنی بودن از مواد مغذی مختلف به سرعت کپک می‌زند و از بین می‌رود. بنابراین جهت استفاده بهینه آن در تغذیه دام باید به روش‌های مختلف از جمله خشک نمودن و سیلو کردن آن را حفظ کرد (فوندویلا و همکاران ۱۹۹۴). بهره‌گیری از روش سیلو کردن با افزایش ارزش غذایی پسماندهای کشاورزی و وارد نمودن آن‌ها به غذای دام با ارزش افزوده و کاهش ۳۵ تا ۴۰ درصدی قیمت خوراک دام و هزینه‌های مدیریت خوراک و خوراک دادن، قابلیت انبار کردن طولانی مدت با حفظ تازگی و کیفیت محصول، رفع معضل عدم وجود سیلو در اکثر دامداری‌ها، عدم وجود تلفات مواد خوراکی هم را فراهم می‌آورد. همچنین افزودن اوره به پسماندها به دلیل این‌که بخش آمینی مورد نیاز سیستم‌های میکروبی را در سیلو تامین می‌نماید، تخمیر دیواره‌های سلولی مواد سیلویی ادامه می‌یابد، درنتیجه میکروارگانیسم‌های موجود دیواره‌های سلولی را تخمیر نموده و منجر به آزادسازی نیتروژن به دام افتاده در دیواره‌های سلولی می‌گردد که منجر به افزایش ارزش غذایی خوراک می‌گردد (بشارتی و همکاران ۲۰۰۸). بخار آب تحت فشار (اتوکلاوکردن) گروه‌های استیل را از ماتریکس همی سلولزی آزاد کرده و تولید اسید استیک را به همراه دارد و تا حد قابل قبولی منجر به شکستن دیواره سلولی می‌گردد (رفیعی طاقانکی و همکاران ۲۰۱۳). اضافه کردن آنزیم سلولاز و زایلاناز به جیره قبل از تغذیه، یکی از این دستاوردهایی است که به منظور شروع زودتر هضم و بدست آوردن هضم کامل‌تر قسمت فیبری انجام می‌گیرد (بیوچمین و رد ۱۹۹۶). آنزیم‌ها به طور گسترده‌ای در صنایع مختلف از جمله استفاده در کارخانجات خوراک دام برای بهبود استفاده از مواد مغذی کاربرد دارند، همچنین افزایش در تجزیه پذیری ماده خشک، NDF و ADF علوفه‌ها و لگوم‌ها درشرایط آزمایشگاهی (پینس ردریگرز و همکاران ۲۰۰۲; الگاندر و همکاران ۲۰۱۳) و آزمایشات درون تنی (بیوچمین و همکاران ۱۹۹۸; بیلیک و لوپزانکا ۲۰۱۰; دهقانی و همکاران ۲۰۱۲) با اضافه کردن فیبروآنزیم‌ها مشاهده شده است، با این حال نتایج در این زمینه بسیار متغیر است و به نسبت آنزیم: سوبسترا و تجزیه آنزیم توسط پروتئازهای شکمبه‌ای بستگی دارد (ایبانز و همکاران ۲۰۱۰). هدف از این مطالعه شناخت بهتر خصوصیات شیمیایی و تغذیه ای تفاله گوجه فرنگی و بررسی اثر تیمارهای شیمیایی و آنزیمی بر ارزش غذایی و فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم آن در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از تکنیک‌های تولید گاز بود.

مواد و روش‌ها

تفاله گوجه فرنگی از کارخانه رب روژین کرمانشاه تهیه و پس از خشک شدن با عبور از الک ۱ میلی‌متری آسیاب شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: تیمار شاهد، اتوکلاو، اتوکلاو+اوره، اوره ۳ درصد، آنزیم ۰/۵ درصد و آنزیم یک درصد، که در تیمار اتوکلاو مقداری از تفاله گوجه فرنگی به مدت ۳۰ دقیقه با فشار ۱۲۰ اتمسفر اتوکلاو شدند. در تیمار اوره، تفاله گوجه با ۳

اتمسفر اتوکلاو شدند. در تیمار اوره، تفاله گوجه با ۳ درصد اوره بر اساس ماده خشک مخلوط و پس از قرار دادن در کیسه‌های پلاستیکی به شدت فشرده شدند تا هوای اضافی خارج شود و به مدت ۲۸ روز در دمای اتاق نگهداری شدند. تیمار اتوکلاو+اوره پس از اتوکلاو شدن به روش فوق همانند تیمار اوره با ۳ درصد اوره مخلوط و ۲۸ روز نگهداری شدند. جهت تیمارهای آنزیمی از آنجا که آنزیم نیاز به زمانی برای اتصال و جذب به سوبسترا برای محافظت در برابر تجزیه پروتئولایتیک‌ها در شکمبه داشت (بیوچمین و همکاران ۲۰۰۳). نمونه تفاله گوجه روز قبل از آزمایش پس از مرطوب شدن جهت تیمارهای آنزیم، با ۰/۵ و ۱ درصد آنزیم مخلوط شد. مولتی آنزیم تجاری مورد استفاده در این پژوهش، ناتوزیم[1] و به صورت جامد و پودری بود. ترکیب و فعالیت آنزیم براساس اطلاعات شرکت سازنده (واحد آنزیمی به ازای گرم آنزیم) عبارت بود از: سلولاز (۴۵۰۰)، زایلاناز (۲۵۰۰)، بتا-گلوکاناز (۵۰۰)، پروتئاز (۳۰۰۰) و آمیلاز (۷۵۰). ترکیب شیمیایی تیمارها شامل ماده خشک، ماده آلی، پروتئین و خاکستر مطابق با روش‌های استاندارد AOAC (۱۹۹۰) و همینطور NDF و ADF به روش ون سوئست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین گردید. مایع شکمبه مورد استفاده در آزمون تولید گاز از ۳ گوسفند نر فیستولادار نژاد مهربان (با وزن ۵۰/۵±۴ کیلوگرم) تهیه گردید. جیره مورد استفاده این گوسفندان شامل (بر اساس ماده خشک): ۸۰٪ یونجه و ۲۰٪ جو بود. مایع شکمبه جمع‌آوری شده بعد از مخلوط شدن داخل یک فلاسک از قبل گرم شدهٔ عایق حرارتی ریخته شده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و از پارچه مخصوص ۸ لایه عبور داده شد. آزمایش کینتیک تولید گاز مطابق با روش تشریح شده منکی و استینگاس (۱۹۸۸) انجام شد. مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم برای آزمون تولید گاز ۱۴۴ ساعته و ۵۰۰ میلی‌گرم برای آزمون تولید گاز ۲۴ ساعته از هر نمونه در ۳ تکرار در بطری‌های ۱۲۵ میلی لیتری شیشه‌ای ریخته شده و به ترتیب با ۳۰ و ۴۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (منکی و استینگاش ۱۹۸۸) در یک حمام آب گرم با دمای ۳۹ درجه سانتیگراد کشت داده شد. میزان گاز تولیدی در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۳، ۲۶، ۳۰، ۳۵، ۴۷، ۵۹، ۷۱، ۹۵، ۱۲۰و ۱۴۴ ساعت بعد از شروع انکوباسیون اندازه‌گیری شده و داده‌های حاصله به منظور برآورد مؤلفه‌های کینتیک تولید گاز مطابق با مدل ($GP= A(1- e^{-c-(t-L)}$) ارائه شده توسط فرانس و همکاران (۱۹۹۳) و با کمک رویه NLIN نرم افزار SAS (۲۰۰۲) برازش شده و مؤلفه‌های مورد نظر (A، c و L) برآورد گردید، که در آن: GP حجم کل گاز تولیدی در زمان t، A حجم گاز تولیدی (پس از ۱۴۴ ساعت) حاصل از بخش محلول و نامحلول (میلی لیتر به ازای ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، c سرعت تولید گاز برای بخش b، t زمان انکوباسیون و L زمان تاخیر می‌باشند. جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم آزمایشگاهی ماده آلی آزمون تولید گاز به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. پس از ۲۴ ساعت حجم گاز تولیدی اندازه‌گیری شد و سپس محتویات بطری‌ها به داخل لوله‌های فالکون منتقل و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با نرخ ۵۰۰۰ ×g سانتریفوژ شدند. مایع رویی با دقت جداسازی شد و لوله‌های فالکون حاوی بقایای هضم نشده به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند. پس از ثبت وزن بقایای خشک شده، محتویات لوله‌ها به کیسه‌های پلی استری منتقل شده و به مدت ۱ ساعت در محلول شوینده خنثی جوشانده شدند. کیسه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد کاملاً خشک و وزن آن‌ها ثبت شد. میزان ضریب تفکیک با استفاده از وزن مقدار ماده خشک تجزیه شده (پس از هضم در محلول NDS) تقسیم بر مقدار گاز تولید شده بعد از ۲۴ ساعت به دست آمد (بلومل و همکاران ۱۹۹۷). برای برآورد انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک) و قابلیت هضم ماده آلی (درصد) از فرمول منکی و استینگاس (۱۹۸۸) استفاده شد :

$$ME\ (MJ/Kg\ DM) = 2.20 + 0.136 \times GP + 0.057 \times CP + 0.0029 \times CP^2$$

$$OMD\ (g/100\ g\ DM) = 14.88 + 0.889 \times Gp + 0.45 \times CP + 0.0651 \times ASH$$

[1] Natuzyme

که در آن: ME : انرژی قابل متابولیسم (مگاژول بر کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی لیتر بر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (درصد) و Ash : خاکستر (درصد) می باشند. از رابطه ورکو و همکاران (۲۰۱۰) برای برآورد توده میکروبی (MB) استفاده شد:

$$MB= (500 – W –GP_{24}\times 2.2)$$

W: وزن مقدار ماده خشک تجزیه شده (بعد از هضم در محلول شوینده خنثی)، GP24: میانگین تولید گاز بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، ۲/۲: فاکتور استوکیومتری برای علوفه‌ها.

کلیهٔ آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شده و داده‌های به دست آمده با استفاده از طرح کاملا تصادفی و رویه GLM در نرم افزار SAS بر اساس مدل آماری زیر تحلیل شد: $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$. در این مدل Y_{ij} مقدار هر مشاهده، μ میانگین به دست آمده، وT_i اثر نوع تیمار و e_{ij} اثر خطای آزمایش می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها با سطح خطای ۰/۰۵ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با رویه GLM نرم افزار SAS،۹/۱ (۲۰۰۲) انجام شد.

نتیجه‌گیری و بحث

ترکیب شیمیایی: میانگین مواد مغذی اندازه‌گیری شده برای تفاله‌های گوجه فرنگی فرآوری نشده و فرآوری شده با اتوکلاو، اوره و آنزیم درجدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل ازاین مطالعه نشان می‌دهد که تفاله گوجه فرنگی عمل‌آوری نشده (شاهد) بالاترین میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و خاکستر را دارا بود که در رابطه با الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت ($P<۰/۰۵$). از نظر میزان پروتئین خام، گوجه فرنگی عمل آوری شده با سه درصد اوره و تفاله گوجه فرنگی شاهد به ترتیب بیشترین (۳۴۳ گرم در کیلوگرم ماده خشک) و کمترین (۲۵۶/۸ گرم در کیلوگرم ماده خشک) مقدار را دارا بودند که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت ($P<۰/۰۵$). مقادیر پروتئین خام، تفاله گوجه فرنگی در بررسی‌ها (بشارتی و همکاران ۲۰۰۸; تقی‌زاده و همکاران ۲۰۰۸; عبدالله زاده و همکاران ۲۰۱۰) به ترتیب ۲۱/۵۹، ۲۲/۲۱ و ۲۱ گزارش نمودند که از نظر پروتئین خام کمتر از مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر است که این تفاوت‌ها می‌تواند به تفاوت در واریته گوجه فرنگی‌های مورد مطالعه، شرایط محیطی کشت و تاثیرات ناشی از نوع فراوری گوجه فرنگی برگردد. مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و اسیدی در تفاله گوجه فرنگی به ترتیب ۵۴/۲۶، ۴۵/۸۷درصد (تقی زاده و همکاران ۲۰۰۸) و ۵۸/۷۵، ۴۵/۶۷ درصد (رهبرپور و همکاران ۲۰۱۲) گزارش کردند که با مقادیر به دست آمده در مطالعه مطابقت دارد. باتوجه به نتایج به دست آمده دراین مطالعه، تفاوت در مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی احتمالاً به نقش اوره و بعضاً آنزیم در تیمارهای عمل‌آوری شده مربوط باشد بدین صورت که اوره بخش آمینی مورد نیاز سیستم‌های میکروبی را تامین می‌نماید لذا تخمیر دیواره‌های سلولی ادامه می‌یابد، درنتیجه میکروارگانیسم‌های موجود دیواره‌های سلولی را تخمیر نموده و در نتیجه نیتروژن به دام افتاده در دیواره‌های سلولی نیز آزاد می‌شود (بشارتی و همکاران ۲۰۰۸).

همچنین کاهش میزان الیاف شوینده خنثی تفاله گوجه فرنگی در تیمار اوره در مطالعه رهبرپور و همکاران (۲۰۱۲) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد نیز گزارش شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد تیمار آنزیم در دو سطح ۰/۵ و ۱ درصد نیز دارای اثرات کاهشی در میزان مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی است چرا که با افزودن آنزیم‌های فیبرولیتیک در علوفه‌ها در شرایط آزمایشگاهی تجزیه پذیری الیاف شوینده خنثی و اسیدی افزایش می‌یابد (پینس ردریگرز و همکاران ۲۰۰۲) .

جدول ۱- ترکیب شیمیایی تیمارهای مختلف تفاله گوجه فرنگی

Table 1- Chemical composition of different tomato waste treatments

تیمار Treatments	ترکیبات شیمیایی(گرم در کیلوگرم ماده خشک) Chemical composition (g/ kg DM)				
	ماده خشک DM	فیبر محلول در شوینده خنثی NDF	فیبر محلول در شوینده اسیدی ADF	خاکستر Ash	پروتئین خام CP
شاهد	915.9 [a]	566.3 [a]	489.3 [a]	85.6 [a]	256.8 [e]
Control اتوکلاو	914.5 [ab]	558.1 [ab]	456.1 [bc]	85.5 [ab]	256.7 [d]
Autoclaved تیمار اتواوره	915.7 [ab]	525.1 [c]	474.1 [abc]	84.3 [ab]	303.5 [b]
Autoclaved+urea تیمار اوره ۳درصد	914.4 [b]	498.1 [d]	450.1 [c]	84.1 [b]	343.0 [a]
3% urea تیمار آنزیم ۰/۵ درصد	915.6 [ab]	552.1 [b]	477.3 [ab]	84.4 [ab]	259.7 [c]
0.5% enzyme تیمار آنزیم ۱ درصد	915.8 [ab]	524.6 [c]	465.3 [c]	84.2 [ab]	259.7 [c]
1% enzyme					
P value	0.066	0.019	0.028	0.058	0.032
SEM	0.041	2.50	1.39	0.041	0.225

معنی‌داری در سطح۰/۰۵و SEM : اشتباه معیار بین میانگین‌ها، a،b و c : حروف لاتین در هر ستون نشان دهندهٔ اختلاف آماری بین تیمارها است.

SEM: Standard error of means, a, b, c: Means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05)

فراسنجه‌های تولید گاز

همان‌گونه که در جدول ۲ مشخص است، میانگین پتانسیل تولید گاز (A) پس از ۱۴۴ ساعت انکوباسیون در بین تیمارها یکسان نبود و اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از این نظر دیده شد (P<۰/۰۵). تیمار آنزیم ۱ درصد بیشترین افزایش نسبت به شاهد را در تولید گاز نشان داد که احتمالاً به افزایش تخمیر دیواره سلولی در نتیجه فعالیت آنزیم‌ها بر می‌گردد. از طرفی در تیمارهای اوره ۳ درصد و اتوکلاو به همراه فرآوری اوره کاهش معنی‌داری در تولید گاز دیده شد که نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که افزایش پروتئین محلول در خوراک‌ها تولید گاز را کاهش می‌دهد. علت این موضوع می‌تواند به دلیل تاثیر منفی آمونیاک تولید شده در حین فرآیند هیدرولیز اوره بر آزاد شدن گاز از منبع مستقیم (میکروارگانیسم‌ها) و غیر مستقیم (بافرینگ) مایع تخمیری باشد (کونه و ون گلدر ۱۹۹۹).

تیمار تفاله گوجه با اوره با افزایش pH به علت هیدرولیز اوره به آمونیاک و کاهش فاکتورهای ضدتغذیه‌ای، منجر به افزایش تجزیه شکمبه‌ای خوراک می‌شود. این افزایش در پروتئین محلول تولید گاز را کاهش می‌دهد (رهبرپور و همکاران ۲۰۱۲). اتوکلاو کردن دانه ماشک باعث کاهش پتانسیل تولید گاز، افزایش فاز تاخیر و کاهش قابلیت هضم ماده آلی و میزان انرژی قابل متابولیسم شد (سیف داوتی و تقی زاده ۲۰۱۲)، که در مطالعه حاضر اتوکلاو کردن چنین اثری نداشت. در تیمار شاهد و اتوکلاو بیشترین مقدار مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی مشاهد شد که می‌تواند علت بالاتر بودن فراسنجه C باشد (هرچند اختلاف مقدار فراسنجه C بین تیمارها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود). فاز تاخیر (L) مدت زمان تاخیر در شروع تولید گاز از

زمان آغاز انکوباسیون است که در تیمار اوره ۳ درصد و اتوکلاو به همراه اوره بیشترین میزان تاخیر دیده شد که با پتانسیل تولید گاز در این تیمارها رابطه عکس دیده می‌شود و از نظر این فراسنجه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری دیده می‌شود (P<۰/۰۵). از طرفی در تیمار آنزیم یک درصد کمترین میزان فاز تاخیر دیده شد که اضافه کردن آنزیم سلولاز و زایلاناز به جیره قبل از تغذیه را به منظور شروع زودتر هضم و بدست آوردن هضم کامل‌تر قسمت فیبری مثبت ارزیابی کرده‌اند (بیوچمین و رد ۱۹۹۶). همچنین افزودن آنزیم‌های خارجی فیبرولیتیک در دو سطح ۰/۰۴ و ۰/۰۸ درصد به کاه برنج در شرایط آزمایشگاهی منجر به افزایش میزان گاز تولیدی و کاهش فاز تاخیر به طور معنی‌داری شد (لورنزو و همکاران ۲۰۱۴) که با نتایج مطالعه حاضر در رابطه با افزودن آنزیم مطابقت دارد. نتایج مشابهی را در مطالعه اثر آنزیم‌های خارجی در تولید گاز و نرخ تولید گاز خوراک‌های فیبری گزارش شده است (الگاندر و همکاران ۲۰۱۳).

جدول ۲- اثر تیمارهای مختلف تفاله گوجه فرنگی بر روی فراسنجه‌های تولید گاز

Table 2- Effect of different treatments of tomato waste on gas production parameters

تیمار Treatments	فراسنجه‌های تولید گاز Gas production parameters		
	A	۲C	۳L
شاهد Control	91.26 bc	0.074	0.81 b
اتوکلاو Autoclaved	98.19 ab	0.075	0.66 b
تیمار اتواوره	82.03 d	0.072	1.27 a
Autoclaved+urea تیمار اوره ۳درصد	85.97 cd	0.071	1.25 a
3% Urea تیمار آنزیم ۰/۵ درصد	96.50 ab	0.072	0.70 b
0.5% Enzyme تیمار آنزیم ۱ درصد 1% Enzyme	100.13 a	0.071	0.55 b
P value	0.021	0.067	0.033
SEM	1.37	0.049	0.180

۱: پتانسیل تولید گاز (میلی لیتر بر ۲۰۰میلی گرم ماده خشک)، ۲ : نرخ تولید گاز(/h) ، ۳ : فاز تاخیر(ساعت)،

*معنی‌داری در سطح۰/۰۵ و SEM : اشتباه معیار بین میانگین‌ها، a،b و c : حروف لاتین در هر ستون نشان دهندهٔ اختلاف آماری بین تیمارها است.

1 Asymptotic gas production (ml/ 200 mg DM), 2 Rate of gas production (/h), 3 Lag time (h)

SEM: Standard error of means, a, b, c: Means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05)

فراسنجه‌های تخمیر شکمبه‌ای

در جدول ۳ فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم تیمارهای آنزیمی و شیمیایی تفاله گوجه فرنگی آورده شده است. میانگین حداکثر تولید گاز در تیمارها پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در تیمار اتوکلاو بیشترین بود و تیمارهای اوره و اتوکلاو به همراه اوره کمتر از شاهد بود و از این نظر اختلاف معنی‌داری بین تیمارها دیده شد (P<۰/۰۵)، که تولید گاز کمتر احتمالا به دلیل نقش

اوره در افزایش پروتئین محلول و در ادامه کاهش تولید گاز است (رهبرپور و همکاران ۲۰۱۳). از نظر میزان قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P<۰/۰۵$) که در تیمار شاهد کمترین میزان بود که این امر می‌تواند به علت میزان مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بالا در تیمار شاهد باشد که با افزایش دیواره سلولی و کاهش میزان پروتئین خام میزان مصرف ماده خشک و گوارش‌پذیری گیاه را کاهش می‌دهد (استیسی و همکاران ۱۹۸۳ و مجنونی و همکاران ۲۰۱۳). تجزیه پذیری علوفه در شکمبه بطور اساسی تحت تأثیر بخشهای دیواره سلولی و لیگنینی شدن قرار دارد که لیگنین بعنوان یک بخش غیر قابل هضم و یک فاکتور محدود کننده از فعالیت آنزیمهای میکروبی بر روی پلی ساکاریدهای دیواره سلولی عمل می‌کند. لذا بخش‌های دیواره سلولی ممکن است دارای یک اثر منفی بر قابلیت هضم باشند (ون سوئست ۱۹۹۴). بشارتی و همکاران (۲۰۰۸) مقدار تجزیه پذیری بالای مادهٔ خشک تفاله گوجه فرنگی پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای در نمونه تیمار شده با اوره را نتیجه تاثیر تخمیر روی مواد خوراکی مورد مطالعه و همچنین افزایش بخش‌های محلول تفاله گوجه فرنگی در اثر افزودن اوره، بیان کرده‌اند که نتایج مطالعه حاضر با این گزارش مطابقت داشت. مطالعات بسیاری با افزودن مولتی آنزیم‌های فیبرولایتیک، افزایش تجزیه پذیری ماده خشک، مقادیر الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی علوفه‌ها و لگوم‌ها در شرایط آزمایشگاهی و آزمایشات درون تنی (بیلیک و لوپزانکا ۲۰۱۰؛ دهقانی و همکاران ۲۰۱۲ و الگاندر و همکاران ۲۰۱۳) را گزارش کرده‌اند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد، در حالی‌که بهبودی در قابلیت هضم خوراک با کیفیت پایین با افزودن آنزیم‌های خارجی در مطالعه آولاندا و همکاران (۲۰۰۹) دیده نشد. دلیل این نتایج متغیر به دلیل ویژگی‌های سوبسترای مورد استفاده، ترکیبات محصولات آنزیم، مقدار آنزیم به کار برده شده و روش به کار بردن آن دارد (حسین و همکاران ۲۰۰۸ و گالاردو و همکاران ۲۰۱۰)، برای مثال افزودن آنزیم‌های خارجی فیبرولیتیک در دو سطح ۰/۰۴ و ۰/۰۸درصد به کاه برنج در شرایط آزمایشگاهی تغییر معنی‌داری در قابلیت هضم ماده خشک در طی ۲۴ ساعت نداشت (لورنزو و همکاران ۲۰۱۴). دیواره سلولی علوفه‌ها بطور قابل توجهی بر مصرف خوراک از طریق مکانیسم انباشتگی شکمبه‌ای تأثیر می‌گذارد. یک واحد افزایش در تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDFD) در شرایط آزمایشگاهی یا درون تنی (In vivo) باعث ۰/۱۷ کیلوگرم افزایش در مصرف ماده خشک شد (ابا و آلن ۱۹۹۹). تفاوت مثبت و معنی داری بین تجزیه پذیری ماده خشک (DMD) و تجزیه پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی وجود دارد (بلومل و همکاران ۱۹۹۷) که در مطالعه حاضر نیز این نتایج دیده شد (جدول ۳).

تغییرات ایجاد شده در گوارش‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی این مطالعه در تیمارهای مختلف احتمالاً به‌دلیل تغییرات همزمان و هماهنگ در مقدار لیگنین بوده است که این امر در تغییر غلظت الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نمایان است به طوری‌که تیمار شاهد با بیشترین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی دارای کمترین میزان گوارش‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی و تیمار اوره ۳ درصد با کمترین میزان الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بیشترین میزان گوارش‌پذیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی را نشان دادند. در تیمارهای آنزیم نیز تجزیه پذیری بالای الیاف نامحلول در شوینده خنثی دیده شد که می تواند به تجزیه پذیری بالا با اضافه کردن ناتوزیم فیبرولیتیک با فعالیت آنزیمی در اتصالات لیگنوسلولایتیک و احتمالا به دیگر اثرات غیر مستقیم مرتبط باشد (ایبانز و همکاران ۲۰۱۰). این امکان وجود دارد که افزودن آنزیم‌های خارجی موجب افزایش بخش بالقوه قابل تجزیه سلولز موجود در الیاف نامحلول در شوینده اسیدی شود. در رابطه با میزان توده میکروبی (MB) تولید شده، بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت

(P<۰/۰۵) و تیمار آنزیم یک درصد بیشترین میزان تولید توده میکروبی و تیمار شاهد کمترین میزان تولید را داشت چرا که با افزایش آنزیم‌های فیبرولیتیک پاسخ مثبتی در رشد توده میکروبی در نتیجه افزایش فراهمی متابولیت‌ها برای رشد میکروبی به وجود می آید (ایبانز و همکاران ۲۰۱۰).

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف تفاله گوجه فرنگی بر روی فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم

Table 3- Effect of different treatments of tomato waste on fermentation parameters and digestibility

تیمار	فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم						
	GP_{24}	DMD	OMD	NDFD	ME	MB	**PF**
شاهد	103 [b]	765.3 [c]	598.45 [d]	585.40 [b]	9.30 [d]	104.60 [d]	2.60 [d]
Control اتوکلاو	107 [a]	775.3 [bc]	640.42 [b]	597.37 [b]	9.55 [ab]	116.67 [cd]	2.75 [c]
Autoclaved تیمار اتواوره	90 [c]	799.3 [ab]	611.53 [c]	597.05 [b]	9.45 [c]	139.04 [c]	3.05 [b]
Autoclaved+urea تیمار اوره ۳درصد	86 [d]	820.6 [a]	666.50 [a]	678.04 [a]	9.50 [b]	163.83 [ab]	3.23 [a]
3% Urea تیمار آنزیم ۰/۵ درصد	101 [b]	780.6 [bc]	632.01 [b]	602.66 [b]	9.51 [b]	151.67 [b]	2.75 [c]
0.5% Enzyme تیمار آنزیم ۱ درصد	104 [b]	799.3 [ab]	642.63 [b]	617.78 [b]	9.57 [a]	170.4 [a]	3.00 [b]
1% Enzyme							
P value	0.021	0.034	0.028	0.032	0.020	0.036	0.023
SEM	0.90	1.93	2.32	3.22	0.019	2.86	0.046

GP_{24}: حجم گاز بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون (میلی لیتر بر ۲۰۰ میلی گرم ماده خشک)، DMD : قابلیت هضم ماده خشک (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، OMD : قابلیت هضم ماده آلی(گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، NDFD : میزان ناپدید شدن الیاف نامحلول در شوینده خنثی ،ME : انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، MB : توده میکروبی (میلی گرم)، PF: ضریب تفکیک (میلی گرم بر میلی لیتر)، *معنی‌داری در سطح۰/۰۵ و SEM : اشتباه معیار بین میانگینها، a،b و c : حروف لاتین در هر ستون نشان دهندهٔ اختلاف آماری بین تیمارها است.

GP_{24}: gas production after 24 hours (ml/ 200 mg DM), DMD: Dry matter digestibility (g/ kg DM), OMD: Organic matter digestibility (g/ kg DM), NDFD:NDF disappearance (g/ kg DM), ME: Metabolizable energy (MJ/kg DM), MB: Microbial biomass (mg), PF: Partitining factor (mg/ml), SEM: Standard error of means, a, b, c: Means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05)

مقدار ضریب تفکیک (PF) بیانگر این است که چه مقدار از ماده ی آلی تجزیه شده در شکمبه به سمت تولید اسیدهای‌چرب و یا تولید توده میکروبی رفته است (ورکو و همکاران ۲۰۱۰). مقدار طبیعی آن از ۲/۷۵ تا ۴/۴۵ متغیر است که از نسبت ماده آلی هضم شده حقیقی (میلی گرم) به حجم گاز تولیدی (میلی لیتر) محاسبه می‌گردد و هر چه مقدار آن بیشتر باشد نشان دهنده کیفیت بالاتر علوفه است (بلومل ۱۹۹۷). میانگین ضریب تفکیک تیمار اوره (۳/۲۳)، تیمار اتوکلاو به همراه اوره (۳/۰۵) و تیمار آنزیم ۱ درصد (۳) بیشترین‌بود که نشانه اثرگذاری موثر این تیمارها نسبت به شاهد است (P<۰/۰۵) که اختلاف در ضریب تفکیک می تواند ناشی از اختلاف تجزیه پذیری ماده خشک و گاز تولیدی در ۲۴ ساعت باشد که در تیمارهای آزمایشی مشهود است. در رابطه با انرژی قابل متابولیسم (ME) تیمار آنزیم یک درصد بیشترین میزان

و تیمار شاهد کمترین میزان را به خود اختصاص دادند و بین تیمارها اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P<۰/۰۵$)، دلیل بالا بودن انرژی متابولیسمی را می‌توان بالا بودن پروتئین خام و کم بودن الیاف نامحلول در شوینده خنثی دانست (مجنونی و همکاران ۲۰۱۳). همچنین تجزیه پذیری بالای الیاف نامحلول در شوینده خنثی در تیمارهای حاوی آنزیم را می‌توان در نتیجه افزایش فعالیت آنزیمی در اتصالات لیگنوسلولایتیک با اضافه کردن آنزیم‌های فیبرولیتیک را دلیل افزایش انرژی قابل متابولیسم این تیمار دانست (ایبانز و همکاران ۲۰۱۰).

نتیجه گیری

با توجه به اطلاعات به دست آمده و با در نظر گرفتن شاخص‌های قابلیت هضم ماده خشک و الیاف نامحلول در شوینده خنثی، ضریب تفکیک و ترکیب شیمیایی می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که تیمارهای اوره ۳ درصد و آنزیم ناتوزیم در سطح یک درصد باعث افزایش‌کیفیت تفاله گوجه فرنگی شده است. برای کسب اطلاعات بیشتر لازم است تا پژوهش‌های بیشتری در مورد اثر اعمال این تیمارها در تفاله گوجه فرنگی بر عملکرد دام زنده مانند گوسفند پرواری یا گاو شیری انجام شود تا نتایج با اطمینان بیشتری به کاربرده شود.

منابع مورد استفاده

Abdollahzadeh F, Pirmohammadi R, Farhoomand P, Fatehi F and F Pazhoh, 2010. The effect of ensiled mixed tomato and apple pomace on Holstein dairy cow. Italian Journal of Animal Science. 9(2):111-121.

Aghajanzadeh A, Maheri N, Mirzai A and Baradaran A, 2010. Comparison of nutritive value of tomato pomace and brewers grain for ruminants using in vitro gas production technique. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 5(1): 43-51.

Alipour D and Rouzbehan Y, 2007. Effects of ensiling grape pomace and addition of polyethylene glycol on in vitro gas production and microbial biomass yield. Animal Feed Science Technology, 137: 138-149.

AOAC,1990. Official methods of Analysis . 15th ed, Assoc. of Anal. Chem. Washington, DC.

Avellaneda JH, Pinos-Rodríguez JM, González SS, Bárcena R, Hernández A, Cobos M, Hernández D and Montañés O, 2009. Effects of exogenous fibrolytic enzymes on ruminal fermentation and digestion of guinea grass hay. Animal Feed Science and Technology 149: 70-77.

Beauchemin KA, and Rode LM, 1996. Use of feed enzymes in ruminant's nutrition. Meeting Future Challenges. Letbrige Research Center, Alberta, Canada.

Beauchemin KA, Colombotto D, Morgavi DP and Yang W Z, 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. Journal of Animal Science 81(2): 37-47.

Beauchemin KA, Yang WZ and Rode, LM, 1998. Effects of fibrolytic enzyme additives on extent of digestio and milk production of lactating cows. Journal of Animal Science 76(1):358.

Besharati M, Taghizadeh A, Janmohammadi H and Moghadam Gholam A, 2008. Evaluation of some by-Products using In situ and In vitro Gas Production Techniques. American Journal of Animal and Veterinary Sciences 3 (1): 7-12.

Bilik K and Lopuszanska-Rusek M, 2010. Effect of adding fibrolytic enzymes to dairy cow rations on digestive activity in the rumen. Annals of Animal Science Journal 10(2): 127–137.

Blummel M, Makkar HPS. and Becker K, 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 77: 24-34.

Cone JW and van Gelder AH, 1999. Influence of protein fermentation on gas production profiles. Animal Feed Science and Technology 76:251-264.

Dehghani MR, Dehghan-Banadaky M, Rezayazdi K and Masouri H, 2012. Investigation of fibrolytic enzyme on milk production and composition, nutrients digestibility and rumen pH in early lactating Holstein cows. Journal of Animal Science Research 22(2): 45-56.(In Farsi)

Elghandour MMY, Salem AZM, Gonzalez-Ronquilloa, M, Bórquez JL, Gadob Odongoc HM and CG Penuelas, 2013. Effects of exogenous enzymes on in vitro gas production kinetics and ruminal fermentation of four fibrous feeds. Animal Feed Science and Technology 179: 46– 53.

Fondevila M, Guada JA, Gasa J and Castrillo C, 1994. Tomato pomace as a protein supplement for growing lambs. Small Ruminant Res 13:117.

France J, Dhanoa MS, Theodorou MK, Lister SJ, Davies DR and Isac D, 1993. A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feeds. Journal of Theoretical Biology 163: 99-111.

Gallardo I, Bárcena R, Pinos-Rodríguez JM, Cobos M, Carreón L and Ortega ME, 2010. Influence of exogenous fibrolytic enzymes on in vitro and in sacco degradation of forages for ruminants. Italian Journal of Animal Science 9: 34-38.

Hussain A, Nisa M, Sarwar M, Sharif M and Javaid A, 2008. Effect of exogenous fibrolytic enzymes on ruminant performance. Pakistan Journal of Agriculture Science 45: 297-306.

Ibanez EMA, Martínez GDM and Juárez JAR, 2010. Effect of fibrolitic enzymes on rumen microbial Degradation of sugarcane fiber. Ciência Animal Brasileira11(3): 488-495.

Lorenzo DA, Ojeda Á, Vargas D and Gil JL, 2014. Methods of adding exogenous fibrolytic enzymes to rice (*Oryza sativa L*.) straw and in vitroruminal fermentation parameters. Livestock Research for Rural Development 26(1):124-135.

Majnouni M, Alipour D, Sepehri A and AliArabi H, 2013. The effect of cuttings on yield, chemical composition and in vitro digestibility of alfalfa (*Medicago sativa* var.Hamedani) leaves and stem. Journal of Ruminant Research 1(2): 57-74.(In Farsi)

Menke KH and Steingass H, 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Animal Research and Development 28: 7-55.

Nobakht A and Safamehr AR, 2007. The Effects of Inclusion Different Levels of Dried Tomato Pomace in Laying Hens Diets on Performance and Plasma and Egg Yolk Cholesterol Contents. Journal of Animal and Veterinary Advances 6(9): 1101-1106.

Oba M and Allen MS, 1999. Evaluation of the importance of NDF digestibility: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. Journal Dairy Science 82: 589-596.

Pinos-Rodríguez JM, González-Muñoz SS, Mendoza GD, Bárcena R, Cobos MA, Hernández A and Ortega ME, 2002. Effect of exogenous fibrolytic enzyme on ruminal fermentation and digestibility of alfalfa and rye-grass hay fed to lambs. Journal of Animal Science 80(11): 3016-3020.

Rafiei Taghanaki M, chaji M, Mohammadabadi T and Sari M, 2013. The comparison of digestibility of steam treated sugarcane pith by rumen bacteria or rumen microorganisms of Holstein cow and buffalo of Khuzestan. Journal of Ruminant Research 1(1): 53-75.

Rahbarpour A, Palangi V, Eivazi P and Jalili M, 2012. Calculation of metabolizable protein and energy of tomato pomace by nylon bags and gas production data. European Journal of Experimental Biology 2 (3):822-825.

Rahbarpur A, Taghizadeh A and Mehmannavaz Y, 2013. Determination of nutritive value of tomato pomace using in vitro gas production technique. Online Journal of Animal Feed Research 3(1): 20-22.

SAS, 2002. SAS Users Guide Statistical Analyses Systems Institute. Cary, USA.

Shokrani M, 2008. Agricultural waste and animal feed, using unusual in animal nutrition (Part I). Newsletters Agricultural New Technologies 11:1-4.

Steacy GM, Christensen DA, Cochran MI and Horton A, 1983. An evaluation of three stages of maturity of hay fed with two concentrate levels for lactating dairy cows. Canadian Journal of Animal Science 63: 623-629.

Taghizadeh A, Safamehr A, Palangi V and Mehmannavaz Y, 2008. The determination of metabolizable protein of some feedstuffs used in ruminant. Research Journal of Biological Sciences 3(7): 804-806.

Van Soest PJ, 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant (2nd Ed.). Cornell University Press, Ithaca, NY.
to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597.

Vercoe PE, Makkar HPS and Schlink AC, 2010. In vitro screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. IAEA, Dordrecht, the Netherlands, Pp: 107–144.

Effect of different chemical and enzymatic treatments on nutritional value, gas production and digestibility of tomato Waste by *in vitro* techniques

D Alipour[1*], M Kulivand[2]and R Alimohamady[2]

Received: March 1, 2017 Accepted: January 10, 2018

[1]Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

[2]PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

[*]Corresponding author: alipourd@basu.ac.ir

Introduction: Considering water and land limitation in agriculture, providing some year-round feedstuffs for livestock animals is a challenge for producers. Agro-industrial co-products, which are not in completion with human food resources, can be effectively consumed by ruminant species. Tomato waste (TW) is a by-product obtained after production of tomato sauce, paste and juices in manufactures. Using some physical and chemical processing of by-products can improve their nutritive value for feeding ruminants. Autoclave and exogenous fibrolytic enzymes are of those physical and chemical processing, which have been applied for several agro-industrial co-products. This study aimed to evaluate nutritive value, nutrient digestibilities and gas production parameters of chemically (autoclave and urea treating) and enzymatically (Natuzyme®) treated TW.

Material and methods: Fresh TW were sun-dried and were stored in cold temperature until the beginning of the experiments. Experimental treatments included: control (untreated), autoclaved (120 psi for 30 min), urea (3% urea added DM basis and anaerobically stored for 28 days in room temperature), and autoclave+urea (combination of previously mentioned treatments, 0.5% enzyme and 1% enzyme). One day before the starting of experiment, aqueous solutions of enzymes were added to the samples. For the rest of experiments, samples were ground to pass 1 mm sieve size. Chemical composition of samples (i.e., DM, NDF, ADF, CP and ash) was determined. For in vitro gas production tests (GP), the rumen fluid was taken from three ruminally fistulated Mehraban male mature lambs. For measuring kinetic parameters of gas production, 200 mg of samples were incubated in glass syringes containing 30 ml buffered-ruminal fluid for 144 hours. The cumulative produced gas was recorded at different times of incubation. The gas production data were fitted to exponential equation of $GP= A(1-e^{-c(t-L)})$; where GP is gas production at different times of incubation, A is asymptotic gas production (ml/200 mg DM), c is rate of gas production (/h), t is time of incubation and L is lag time (h). For measuring digestibility parameters, 500 mg of samples in glass syringes contained 40 ml buffered ruminal fluid were incubated at 39 °C for 24 hours. Volume of GP, metabolizable energy (ME), organic matter digestibility, partitioning factor (PF) and microbial biomass were determined after termination of incubation. All the in vitro gas production trials were carried out in three runs. Data were analyzed based on a completely randomized design using Proc GLM of SAS software. The differences among treatments were evaluated using Duncan's multiple range test.

Results and discussion: The highest amount of NDF, ADF and ash were observed in control treatment, while the highest CP was recorded with the treatment of 3% urea. The lower cell wall content in treated TW could be due to the role of urea and enzymes in breaking the links between cellulose and lignin. The treatment of 1% urea had the highest increment in comparison with control which is likely because of the activity of added enzymes in increasing fermentation of TW cell wall. The lower GP of 3% urea and autoclave+urea among all treatments can be due to the negative effect of ammonia on both direct GP from microorganisms activities and indirect GP from buffering of produced volatile fatty acids during fermentation. Also, the highest values of L were observed in 3% urea and autoclave+urea groups. The treatments were significantly different in dry matter

digestibility and OMD of which control had the lowest value. This could be due to the higher percentage of cell wall in control TW and the negative relation of cell wall with digestibility. The treatment of 1% enzyme and control showed the highest and lowest MB, respectively ($P<0.05$). The higher MB in treated TW shows that processing had increased the availability of growth required factors for microorganisms. The PF were higher in urea, autoclave+urea and 1% enzyme groups ($P<0.05$). The higher value for this parameter shows that degraded organic matter is more directed towards microbial biomass production rather than production of volatile fatty acids. The treatment of 1% enzyme had the highest value of ME, while control showed the lowest value (9.57 vs. 9.30 MJ/kg DM, respectively).

Conclusion: Considering the obtained data related to dry matter digestibility, NDF, PF and chemical compositions of different treatments, it is concluded that the administration of 3% urea and using Natuzyme® at the level of 1% of DM improved the nutritive value of TW. Further research is needed to study the effect of using TW in performance of productive ruminants.

Keywords: Digestibility, Enzyme, In Vitro Gas Production, Tomato Waste, Urea