

Research Article

The effect of fermentation by *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger* on nutritional value of corn bran based on the TOPSIS multi-criteria decision making method

Habib Allah Zare Harofte ^{1*}, Behruz Dastar ¹, Omid Ashayerizadeh ¹, Javad Bayat Koohsar ²

¹ Department of Animal and Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

² Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Gonbade Kavos University, Gonbade Kavos, Iran

Key Words

Corn bran
Microbial fermentation
Nutritional value
TOPSIS multi-criteria decision

Abstract

Introduction: This study was conducted to determine the effect of microbial fermentation with *Bacillus Subtilis* and *Aspergillus niger* on nutritional value of corn bran on different fermentation days (0, 1, 7, 14, 21 and 28) in a completely randomized design and then the experimental treatments were compared based on the TOPSIS model.

Materials & Methods: *Bacillus subtilis* (PTCC-1156) and *Aspergillus Niger* (PTCC-5010) were obtained as lyophilized vials from the Iranian Scientific and Industrial Research Organization's Fungus and Bacteria Collection Center. Bacterial and fungal lyophilized vials were activated at 37 °C and 25 °C, in modified ruginose broth media and potato dextrose agar broth, respectively. One kilogram of corn bran was inoculated with one liter of distilled water and the inoculum (containing at least 10⁵ colony-forming units per mL). A mixture of corn bran and fungal or bacterial inoculum was preserved in plastic nylon bags at 25 °C for 0, 7, 14, 21 and 28 days to complete the fermentation process.

Results: The results of the present study showed that pH, ADF, NDF and crude fiber decreased on day 21 compared to day 0 significantly (p<0.05). Fermentation of corn bran caused a 1.04% increase in the amount of crude protein for day 21 after fermentation, but no significant difference was observed in the amount of crude protein on days 7, 14 and 28 (p<0.05). Fermentation of corn bran on days 14, 21 and 28 after fermentation had a significant effect on NPN amount (p<0.05), which lowest value was found on day 28 of fermentation. The concentration of gross energy showed an increasing trend with increasing fermentation time and the highest amount of gross energy was related to 21 d. In this study, as a result of fermentation, the mass density of corn bran increased significantly from 0.306 g on day 0 to a maximum of 0.330 g/cm³ on day 21 (p<0.05). According to the TOPSIS model, corn bran fermentation improves its nutritional value compared to corn bran, regardless of the fermentation time.

Conclusion: The results of this experiment showed that the microbial fermentation process with *Bacillus subtilis* and *Aspergillus niger* for 14 days can effectively and efficiently improve the nutritional value of corn bran.

Article info

* Corresponding Author's email:
habibzare58@gmail.com

Received: 2 January 2025

Reviewed: 7 February 2025

Revised: 16 April 2025

Accepted: 21 May 2025

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی اثر تخمیر با باسیلوس سابتیلیس و آسپرژیلوس نایجر بر ارزش تغذیه‌ای سبوس ذرت بر اساس روش تصمیم‌گیری چند شاخصه تاپسیس

حبیب‌اله زارع‌هرفته^{۱*}، بهروز دستار^۱، امید عشایری‌زاده^۱، جواد بیات‌کوهسار^۲

^۱ گروه تغذیه دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۲ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

سبوس ذرت
تخمیر میکروبی
ارزش تغذیه‌ای
چند شاخصه تاپسیس

مقدمه: مطالعه‌ای به منظور بررسی تأثیر تخمیر میکروبی بر ارزش تغذیه‌ای سبوس ذرت در زمان‌های مختلف (صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸) در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این مطالعه، سبوس ذرت با ترکیبی از باسیلوس سابتیلیس و آسپرژیلوس نایجر تخمیر شد و تأثیر آن بر ترکیب شیمیایی، چگالی، انرژی خام و pH در روزهای مختلف تخمیر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: باکتری باسیلوس سابتیلیس و قارچ آسپرژیلوس نایجر به شکل ویال‌های لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. فعال‌سازی ویال‌های لیوفیلیزه و تهیه کشت آغازگر از باکتری و قارچ به ترتیب در محیط‌های MRS- broth در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و PDA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن به هر کیلوگرم از سبوس ذرت، یک لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل ۱۰° واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه شدند. مخلوط حاصل در نایلون پلاستیکی به مدت صفر، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جهت فرآیند تخمیر نگهداری شدند.

نتایج: نتایج نشان داد که pH، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف خام در روز ۲۱ در مقایسه با روز صفر به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). تخمیر سبوس ذرت باعث افزایش ۱/۰۴ درصدی در مقدار پروتئین خام برای روز ۲۱ پس از تخمیر شد، اما برای روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸ هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار پروتئین خام وجود نداشت ($P < 0/05$). تخمیر سبوس ذرت تأثیر معنی‌داری بر محتوی نیتروژن غیر پروتئینی برای روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از تخمیر نداشت ($P < 0/05$) که پایین‌ترین مقدار آن مربوط به روز ۲۸ تخمیر بود. غلظت انرژی خام با افزایش زمان تخمیر روند افزایشی نشان داد که بالاترین مقدار انرژی خام به ترتیب مربوط به روز ۲۱ ام بود. چگالی توده سبوس ذرت در نتیجه تخمیر از ۰/۳۰۶ گرم در روز صفر به حداکثر ۰/۳۳۰ گرم در سانتی‌متر مکعب در روز ۲۱ به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0/05$). بر اساس مدل تاپسیس تخمیر سبوس ذرت، صرف نظر از مدت زمان تخمیر، سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای آن می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که فرآیند تخمیر میکروبی با ترکیبی از باسیلوس سابتیلیس و آسپرژیلوس نایجر برای بیش‌تر از ۱۴ روز به طور مؤثر سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای سبوس ذرت می‌گردد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

habibzare58@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳ دی ۱۴۰۳

تاریخ داوری: ۱۹ بهمن ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح: ۲۷ فروردین ۱۴۰۴

تاریخ پذیرش: ۳۱ اردیبهشت ۱۴۰۴

مقدمه

ذرت یکی از مهم ترین محصولات زراعی در جهان است که برای اهداف مختلفی نظیر تولید دانه برای خوراک دام و طیور و محصولات غذایی و جانبی حاصل از ذرت تولید می شود. ذرت منبع اصلی تامین انرژی در تنظیم جیره های طیور است به طوری که حدود ۴۵-۵۵ درصد از اجزای جیره را شامل می شود (۵). در طی سال های اخیر قیمت ذرت مشابه سایر اجزای تشکیل دهنده جیره افزایش یافته است که بخشی از آن به دلیل مصرف انسانی آن است که منجر به افزایش قیمت جیره و در نهایت افزایش هزینه تولید در گله های طیور شده است. بنابراین نیاز است تا از سایر منابع انرژی ارزان تر که در دسترس باشند، استفاده شود (۶). محصولات فرعی حاصل از صنایع کشاورزی توان بالایی برای کاهش هزینه جیره غذایی حیوانات دارند (۱۷). اما استفاده از محصولات فرعی حاصل از صنایع کشاورزی در جیره های غذایی طیور به دلیل این که حاوی مقادیر زیادی مواد ضد مغذی هستند با محدودیت همراه می باشد (۲۳). سبوس ذرت، غشای خارجی یا همان پوسته ذرت است که یکی از محصولات جانبی فرآیند تولید نشاسته می باشد. میزان پروتئین سبوس ذرت ۱۰ الی ۱۲ درصد بوده و هم چنین حدوداً ۲۲ درصد نشاسته، ۵ درصد روغن و ۱۵ درصد فیبر دارد و از بهترین مواد غذایی برای تغذیه حیوانات است. قابلیت هضم سبوس ذرت در حیوانات تک معده ای مانند طیور به دلیل فیبر خام بالا کم است. به همین دلیل استفاده از روش های مختلف همواره مورد توجه است تا پرورش دهندگان بتوانند از آن در جیره های طیور بدون این که تأثیر مخربی بر عملکرد پرندگان داشته باشد، استفاده کنند (۱۰). تخمیر حالت جامد (SSF: Solids State Fermentation) به عنوان روشی بیوتکنولوژی روشی موثر است که برای اصلاح مواد بیولوژیکی و کاهش محتوای فیبر خوراک مورد استفاده قرار می گیرد (۲). خوراک های تخمیری توسعه جدیدی در صنعت دام و طیور محسوب می شوند که دارای توان بهبود سلامتی، تولید و عملکرد دام های مصرف کننده هستند (۲۷). تخمیر حالت جامد به عنوان فرآیند تخمیری تعریف می شود که در غیاب و یا تقریباً عدم حضور آب آزاد انجام می شود (۲۵) که سوبسترای جامد باید به اندازه کافی حاوی رطوبت باشد. به طور کلی سوبسترای جامد شرایط محیطی مناسبی برای رشد و متابولیسم انواع میکروارگانیسم ها مانند باکتری، مخمر و قارچ فراهم می کند. تکنیک تخمیر میکروبی روشی کارآمد و موثر برای کاهش اسیدفایتیک در کنجاله کنجد می باشد (۳۷). در بین آن ها قارچ های رشته ای در مقایسه با سایر میکروارگانیسم ها به دلیل رشد میسلیوم بر سطح ذرات مواد و درون آن ها برای فرآیند تخمیر حالت جامد مناسب ترند (۲۱). در طول تخمیر میکروارگانیسم ها

از منابع انرژی و کربن جهت رشد و متابولیسم استفاده می کنند. در تخمیر حالت جامد آنزیم هایی مانند فیتاز، آمیلاز، سلولاز، پروتئاز، آلفا-گالاکتوسیداز، لیپاز و هم چنین اسیدهای آلی مانند اسیدلاکتیک، اسیداستیک و اسیدسیتریک تولید می شوند (۱۸). خوراک های تخمیری دارای pH پایین، غلظت بالایی از اسیدلاکتیک و اسیدهای چرب فرار مختلف و مقادیر زیادی باکتری های لاکتوباسیل می باشند (۳۲، ۲۷). کیفیت خوراک تخمیری بستگی به اثرات متقابل بین میکروارگانیسم های موجود (باکتری، قارچ و مخمر)، پارامترهای تخمیر (زمان، دما، رطوبت خوراک) و ترکیب سوبسترا (کربوهیدرات ها، فیبر خام و پروتئین) دارد (۲۱). pH پایین و تعداد بالای لاکتوباسیل ها در خوراک تخمیر شده جوجه های گوشتی باعث ممانعت از رشد باکتری هایی مانند سالمونلا تیفیموریوم و ایشرشیا کلی در جیره جوجه ها می شود (۲۲). تکنیک تخمیر میکروبی باعث کاهش فیبر خام، ماده خشک و افزایش پروتئین خام و جمعیت باکتری های اسیدلاکتیک گردید (۳۸). مطالعات متعددی در مورد بهبود ارزش تغذیه ای سبوس گندم (۱۴)، کنجاله کلزا (۳)، کنجاله تخم پنبه دانه (۱۳)، کنجاله هسته پالم (۱۹) و کنجاله سویا (۲۰) به کمک روش تخمیر حالت جامد انجام شده است. کمپلکس های آنزیمی میکروبی در هنگام تخمیر قادر به تجزیه پلی ساکاریدهای پیچیده هستند. از این رو، انتظار می رود در هنگام تخمیر سبوس ذرت، آنزیم های میکروبی با تجزیه سلولز سبب کاهش مقدار فیبر خام شوند. علاوه بر این، تخمیر ممکن است سبوس ذرت را با متابولیت های مطلوب حاصل از میکروارگانیسم ها غنی سازد و طعم آن را به منظور بهبود عملکرد رشد در جیره های غذایی پرندگان تغذیه شده حاوی سبوس ذرت تخمیر شده بهبود بخشد (۱۰). لذا، هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر فرایند تخمیر حالت جامد بر ارزش تغذیه ای سبوس ذرت بود. در هنگام تخمیر میکروبی ماده خوراکی بسته به مدت زمان تخمیر، برخی از شاخص های نامطلوب نظیر مقدار فیبر خام کاهش و برخی از شاخص های مطلوب نظیر مقدار پروتئین افزایش می یابند. در این حالت استفاده از روش های تصمیم گیری چند شاخصه نظیر مدل تاپسیس می تواند در تعیین زمان بهینه تخمیر کمک کند. لذا، هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر فرایند تخمیر حالت جامد بر ارزش تغذیه ای سبوس ذرت و تعیین زمان بهینه تخمیر بر اساس مدل تاپسیس بود.

مواد و روش ها

سبوس ذرت با ترکیبی از (باکتری باسیلوس سابیلیس و قارچ آسپرویلوس نایجر) برای مدت ۲۸ روز تخمیر شد. باکتری باسیلوس سابیلیس PTCC-1156 و قارچ آسپرویلوس نایجر PTCC-5010

معنی‌داری بر ترکیب شیمیایی سبوس ذرت در زمان‌های مختلف پس از تخمیر داشت ($p < 0.05$). بیش‌ترین مقدار خاکستر مربوط به روز ۱۴ پس از تخمیر و کم‌ترین مقدار مربوط به ۷ روز پس از تخمیر بود. در عین‌حال، هیچ‌گونه روند خطی یا کوادراتیک مشاهده نشد. روند تغییرات چربی خام با گذشت زمان تخمیر خطی بود به‌گونه‌ای که به ازای هر روز افزایش مدت تخمیر مقدار چربی خام 0.043 درصد کاهش یافت. تخمیر سبوس ذرت با کاهش خطی 0.085 به ازای هر روز موجب کاهش فیبر خام به میزان 2.23 درصد (از 13.22 به 11.00 درصد)، با روش کاهش خطی 0.136 درصد به ازای هر روز سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده اسیدی به میزان 3.06 درصد (از 26.30 به 23.24 درصد) و با روش کاهش خطی 0.118 درصد به ازای هر روز سبب کاهش الیاف نامحلول در شوینده خنثی به میزان 3.92 درصد (از 46.00 به 42.08 درصد) از روز صفر تا روز ۲۸ پس از تخمیر گردید ($p < 0.05$). بیش‌ترین مقدار پروتئین خام مربوط به روز ۲۱ پس از تخمیر بود که نسبت به ابتدای تخمیر افزایش معنی‌دار 1.04 درصدی نشان داد ($p < 0.05$). با این‌حال، برای روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸ هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار پروتئین خام وجود نداشت و هیچ‌گونه روند خطی یا کوادراتیک مشاهده نشد. تخمیر سبوس ذرت تأثیر معنی‌داری بر محتوی نیتروژن غیر پروتئینی برای روزهای ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از تخمیر داشت ($p < 0.05$) و پایین‌ترین مقدار آن مربوط به روز ۲۸ تخمیر بود. روند تغییرات محتوی نیتروژن غیر پروتئینی با گذشت زمان کاهش خطی 0.101 درصد به ازای هر روز بود. تأثیر فرآیند تخمیر بر مقدار نشاسته، انرژی خام، دانسیته توده و pH سبوس ذرت در جدول ۲ گزارش شده است. با افزایش زمان پس از تخمیر مقدار نشاسته 0.151 درصد به ازای هر روز پس از تخمیر کاهش یافت. غلظت انرژی خام سبوس ذرت با افزایش زمان تخمیر روند افزایشی نشان داد به گونه‌ای که به ازای هر روز پس از تخمیر مقدار آن 1.66 کیلوکالری بر کیلوگرم افزایش می‌یافت. پایین‌ترین و بالاترین مقدار انرژی خام به ترتیب مربوط به روز صفر و ۲۱ام پس از تخمیر بود. چگالی توده سبوس ذرت در نتیجه تخمیر از 0.306 در روز صفر به حداکثر 0.330 گرم در سانتی‌متر مکعب در روز ۲۱ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$) و این روند افزایشی به شکلی بود که به ازای هر روز پس از تخمیر مقدار چگالی توده 0.08 گرم در سانتی‌متر مکعب افزایش نشان داد. فرآیند تخمیر موجب کاهش معنی‌دار pH از 5.30 برای روز صفر به 3.73 در روز ۲۸ پس از تخمیر شد ($p < 0.05$). روند تغییرات نشان داد به ازای هر روز پس از تخمیر مقدار pH 0.058 کاهش می‌یابد.

به شکل ویال‌های لئوفیلیزه از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. فعال‌سازی ویال‌های لیوفیلیزه و تهیه کشت آغازگر از باکتری و قارچ به‌ترتیب در محیط‌های MRS- broth در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و PDA در دمای 25 درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از آن به هر کیلوگرم از سبوس ذرت، یک لیتر از ترکیب آب مقطر و کشت آغازگر (حاوی حداقل 1×10^5 واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه شدند. روش تخمیر بدین صورت بود که سبوس ذرت به نسبت 1 به $1/2$ با آب مخلوط شده (1 قسمت سبوس ذرت: $1/2$ قسمت آب) و سپس حداقل 1×10^5 واحد تشکیل اسپور در میلی‌لیتر از کشت آغازگر (حاوی حداقل 10^5 واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر) اضافه شدند. مخلوط حاصل در نایلون‌های پلاستیکی در دمای 25 درجه سانتی‌گراد جهت فرآیند تخمیر نگهداری شدند. ترکیب شیمیایی سبوس خام و هم‌چنین در فاصله‌های زمانی صفر (همان روز تخمیر)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از تخمیر در ۵ نمونه اندازه‌گیری شد. پروتئین خام، چربی خام، فیبر خام و خاکستر (۴)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (۳۱) نیتروژن غیر پروتئینی (۱۶) و چگالی توده (۲۶) اندازه‌گیری شد. جهت تعیین pH 50 گرم نمونه با 450 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد سپس مقدار آن به‌طور مستقیم با pH متر دیجیتالی اندازه‌گیری شد (۳). داده‌های آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها به کمک آزمون توکی انجام شد. برای بررسی ارتباط هر یک از صفات اندازه‌گیری با مدت زمان تخمیر، ابتدا احتمال آن به‌روش مقایسات مستقل چندجمله‌ای تعیین و در صورت معنی‌دار بودن ($p < 0.05$) مدل خطی (درجه ۱) یا مدل کوادراتیک (درجه ۲) تعیین شد. برای آنالیز آماری از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. برای تعیین بهترین تیمار بر اساس معیارهای اندازه‌گیری شده از روش تصمیم‌گیری چند شاخصه مدل تاپسیس استفاده شد. برای این منظور ابتدا ماتریس تصمیم‌گیری تشکیل و پس از نرمال نمودن آن، وزن‌دهی معیارها به کمک روش آنترופی‌شانون انجام شد تا ماتریس مقیاس‌موزون تشکیل شود. سپس راه حل ایده‌آل مثبت و راه حل ایده‌آل منفی تعیین و فاصله تیمارهای آزمایش تا هر یک از ایده‌آل‌های مثبت و منفی به‌دست آمد. پس از آن نسبت نزدیکی هر یک از تیمارهای آزمایش به گزینه ایده‌آل تعیین و بر این اساس تیمارهای آزمایش رتبه‌بندی شدند (۹).

نتایج

تأثیر فرآیند تخمیر حالت جامد بر ترکیب شیمیایی سبوس ذرت در جدول ۱ گزارش شده است. نتایج نشان داد که تخمیر تأثیر

جدول ۱: تأثیر تخمیر میکروبی بر ترکیب شیمیایی سبوس ذرت در روزهای مختلف

P- value		ANOVA	SEM	زمان تخمیر (روز)					ترکیب شیمیایی (درصد)
مقایسات مستقل چند جمله‌ای	خطی			۲۸	۲۱	۱۴	۷	صفر	
کوادراتیک	خطی								
۰/۶۱۳	۰/۵۸۳	۰/۰۱۸	۰/۱۰۳۱	۲/۷۷ ^{bc}	۲/۷۵ ^{bc}	۳/۱۳ ^a	۲/۶۰ ^C	۲/۹۴ ^{ab}	خاکستر
۰/۲۸۷	< ۰/۰۰۱ ⁽⁵⁾	< ۰/۰۰۱	۰/۱۵۶	۱/۵۳ ^{cd}	۱/۳۴ ^d	۱/۸۸ ^{bc}	۲/۳۴ ^{ab}	۲/۵۳ ^a	چربی خام
۰/۹۲۵	< ۰/۰۰۱ ⁽⁶⁾	< ۰/۰۰۱	۰/۲۲۴	۱۱/۰۰ ^c	۱۱/۴۰ ^c	۱۲/۱۲ ^b	۱۲/۸۸ ^a	۱۳/۲۳ ^a	فیبر خام
۰/۵۴۸	۰/۰۰۲ ⁽⁷⁾	۰/۰۱۸	۰/۸۴۱	۲۳/۲۴ ^b	۲۲/۴۴ ^b	۲۴/۴۴ ^{ab}	۲۵/۸۴ ^a	۲۶/۳۰ ^a	۲ADF
۰/۰۲۵	۰/۰۱۳ ⁽⁸⁾	۰/۰۲۳	۰/۹۵۷	۴۲/۰۸ ^b	۴۱/۸۸ ^b	۴۱/۶۸ ^b	۴۲/۲۸ ^b	۴۶/۰۰ ^a	۱NDF
۰/۳۰۴	۰/۱۹۰	۰/۰۰۲	۰/۲۳۸	۱۴/۶۰ ^b	۱۵/۹۰ ^a	۱۴/۸۰ ^b	۱۴/۳۶ ^b	۱۴/۸۶ ^b	پروتئین خام
۰/۲۳۷	< ۰/۰۰۱ ⁽⁹⁾	< ۰/۰۰۱	۰/۳۰۳	۱/۳۰ ^c	۲/۷۴ ^b	۱/۶۳ ^c	۳/۸۴ ^a	۴/۳۰ ^a	۳NPN

a-c میانگین‌ها در ردیف که دارای حرف غیرمشترک هستند اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$). ۱- فیبر نامحلول در شوینده خنثی ۲- فیبر نامحلول در شوینده اسیدی۳- ازلت غیر پروتئینی. $4\hat{y}=37.97+0.74x$; $5\hat{y}=2.52-0.043x$; $6\hat{y}=13.31-0.085x$; $7\hat{y}=26.35-0.136x$; $8\hat{y}=44.43-0.118x$; $9\hat{y}=4.18-0.101x$

جدول ۲: تأثیر فرایند تخمیر حالت جامد بر مقدار نشاسته، pH، انرژی خام و چگالی توده سبوس ذرت

P- value		ANOVA	SEM	زمان تخمیر (روز)					ترکیب شیمیایی (درصد)
مقایسات مستقل چند جمله‌ای	خطی			۲۸	۲۱	۱۴	۷	صفر	
کوادراتیک	خطی								
۰/۰۶۰	۰/۰۰۴ ⁽¹⁾	۰/۰۸۹۰	۱/۵۳	۱۵/۲۰	۱۹/۸۰	۲۱/۰۰	۲۰/۴۰	۲۰/۲۰	نشاسته
۰/۲۵۲	< ۰/۰۰۱ ⁽²⁾	۰/۰۰۷	۹/۰۷	۲۲۱.۰ ^{ab}	۲۲۲.۰ ^a	۲۱۹۸ ^{ab}	۲۱۸۴ ^{bc}	۲۱۷۰ ^c	انرژی خام
۰/۱۶۹	۰/۰۰۳ ⁽³⁾	۰/۰۱۸	۰/۰۰۵	۰/۳۲۴ ^{ab}	۰/۳۳۰ ^a	۰/۳۲۴ ^{ab}	۰/۳۱۰ ^{bc}	۰/۳۰۶ ^c	دانسیته
۰/۲۲۸	< ۰/۰۰۱ ⁽⁴⁾	< ۰/۰۰۱	۰/۱۹۸	۳/۷۳ ^b	۴/۱۸ ^b	۴/۸۵ ^a	۵/۰۱ ^a	۵/۳۰ ^a	pH

a و b میانگین‌ها در ردیف که دارای حرف غیرمشترک هستند اختلاف معنی‌داری دارند ($p < 0.05$). $1\hat{y}=21.44-0.151x$; $2\hat{y}=2173+1.66x$; $3\hat{y}=307.6+0.8x$; $4\hat{y}=5.44-0.058x$

تعیین وزن شاخص‌ها به کمک روش آنتروپی شانون نشان داد
مقدار نیتروژن غیرپروتئینی بیش‌ترین وزن و انرژی خام کم‌ترین وزن

را برای مدل تصمیم‌گیری تاپسیس دارند که وزن و ترتیب اثر آن‌ها
در جدول ۳ گزارش شده است.

جدول ۳: وزن شاخص‌های تصمیم‌گیری بر اساس روش آنتروپی شانون

شاخص	خاکستر	چربی خام	فیبر خام	پروتئین خام	نشاسته	انرژی خام	دانسیته	NPN	pH
وزن	۰/۰۱۱۵	۰/۲۰۳۹	۰/۰۱۶۵	۰/۰۰۳۵	۰/۰۳۴۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲۵	۰/۶۲۰۵	۰/۱۰۷۳
ترتیب اثر	۶	۲	۵	۷	۴	۹	۸	۱	۳

جدول ۴: رتبه‌بندی تیمارهای آزمایش بر اساس مدل تاپسیس

شاخص‌های تصمیم‌گیری	خاکستر	چربی خام	فیبر خام	پروتئین خام	نشاسته	انرژی خام	دانسیته	NPN	pH
مثبت	۰/۰۰۴۳	۰/۱۰۵۸	۰/۰۰۶۰	۰/۰۰۱۵	۰/۰۱۵۰	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۱	۰/۰۹۸۸	۰/۰۳۲۵
منفی	۰/۰۰۵۲	۰/۰۵۲۹	۰/۰۰۷۲	۰/۰۰۱۴	۰/۰۱۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۰	۰/۳۵۲۸	۰/۰۵۷۴

تیمارهای آزمایش

سبوس تخمیری						میزان فاصله تا هر یک از ایده‌آل‌ها	نسبت نزدیکی به گزینه ایده‌آل	رتبه تیمارهای آزمایش
صفر روز	۷ روز	۱۴ روز	۲۱ روز	۲۸ روز	سبوس خام			
۰/۰۵۸۷	۰/۰۵۰۹	۰/۰۳۲۳	۰/۰۶۴۹	۰/۰۴۶۰	۰/۰۶۶۷	مثبت		
۰/۰۵۴۶	۰/۰۷۳۹	۰/۲۳۱۲	۰/۱۴۶۰	۰/۲۵۵۳	۰/۰۵۳۰	منفی		
۰/۴۸۱۷	۰/۵۹۲۲	۰/۸۷۷۴	۰/۶۹۲۲	۰/۸۴۷۳	۰/۴۴۲۸			
۵	۴	۱	۳	۲	۶			

برای رتبه‌بندی تیمارها براساس مدل تاپسیس پس از تشکیل ماتریس تصمیم‌گیری براساس مقادیر هر یک از شاخص‌های تصمیم‌گیری ابتدا ماتریس تصمیم‌گیری نرمال شد. سپس ماتریس بی‌مقیاس موزون تشکیل و براساس وزن شاخص‌های تصمیم‌گیری به کمک روش آنتروپی شانون راه حل ایده‌آل تعیین شد. میزان فاصله هر یک از تیمارها تا ایده‌آل‌های مثبت و منفی محاسبه و سپس نسبت نزدیکی به گزینه ایده‌آل تعیین و در نهایت رتبه‌بندی تیمارها انجام شد. همان‌طور که در جدول ۴ گزارش شده است تخمیر سبوس ذرت برای ۱۴ روز بهترین تیمار است که بالاترین بازده را دارد. سایر تیمارهای ذرت تخمیری در رده‌های بعدی و بهتر از تیمار سبوس ذرت خام می‌باشند.

بحث

تخمیر یک فرآیند دینامیکی شامل میکروارگانیسم‌ها، سوبسترا و شرایط محیطی جهت تبدیل مواد پیچیده به ترکیبات ساده‌تر می‌باشد. تخمیر، می‌تواند هم‌زمان به واسطه فعالیت میکروفلورای طبیعی حاضر بر سوبسترا یا افزودن باکتری یا قارچ‌های خارجی انجام گیرد (۲۱). در این مطالعه از قارچ آسپرژیلوس نایجر و باکتری باسیلوس سابتیلیس به صورت ترکیبی استفاده شد که اثر هم‌افزایی داشته باشند. آسپرژیلوس نایجر یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های صنعتی می‌باشد که دارای سرعت رشد بالا بوده و می‌تواند pH بسیار پایین را تحمل کند (۱۲). باسیلوس سابتیلیس نیز به دلیل ویژگی منحصر به فرد به جهت توانایی در تولید اسپور زیاد و مقاوم به اسید، قلیا و گرما از آن به عنوان یکی از مناسب‌ترین باکتری‌ها در فرآیند کنترل بیولوژیک معرفی شده است (۳۵). باسیلوس‌ها سویه سالم (غیربیماری‌زا) در صنعت خوراک می‌باشند که طیف وسیعی از آنزیم‌ها مانند سلولاز، پروتئاز، لیپاز و آمیلاز را ترشح می‌کنند که موجب تجزیه کربوهیدرات‌های پیچیده گیاهی و افزایش قابلیت هضم آن‌ها می‌شوند (۱۵). نتایج این مطالعه به طور کلی تاثیر فرآیند تخمیر در کاهش مقدار فیبر خام، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی را نشان داد. کاهش فیبر خام، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی در مطالعات دیگر در نتیجه فرآیند تخمیر در مواد خوراکی مانند کنجاله هسته پالم (۱۹، ۱۴)، کنجاله کلزا (۳۳)، سبوس برنج (۲۹) و کنجاله تخم پنبه (۱۳) نیز گزارش شده است. به نظر می‌رسد که کاهش میزان فیبر خام ممکن است به دلیل آنزیم‌های تجزیه‌کننده این ترکیبات به وسیله آسپرژیلوس نایجر (دارای آنزیم‌های تجزیه‌کننده فیبر مانند همی سلولاز، هیدرولاز و پکتیناز) (۲۴)، باسیلوس سابتیلیس (دارای آنزیم‌های سلولاز و فیتاز) (۲۸) و لاکتوباسیلوس‌ها (دارای آنزیم‌های فیتاز، سلولاز، زایلاناز و بتا گلوکاناز)

(۳۰) باشد. نکته مهم دیگری که می‌توان از این نتایج گرفت این است که زمان تخمیر تاثیر مهمی در تولید آنزیم و تجزیه فیبر دارد. همان‌طور که در جدول ۱ گزارش شده است مقدار فیبر خام از روز ۱۴، الیاف نامحلول در شوینده خنثی از روز ۷ام و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی از روز ۲۱ام کاهش معنی‌داری را با مقادیر روز صفر نشان داد. مقدار پروتئین خام به جز برای روز ۲۱ام، تحت تاثیر فرآیند تخمیر قرار نگرفت. در مطالعات گذشته فرآیند تخمیر باعث افزایش مقدار پروتئین خام در کنجاله کلزا (۳)، کنجاله تخم پنبه (۱۳) و کنجاله ریشه کاساوا (۱) شد. افزایش در مقدار پروتئین خام ممکن است به دلیل ساخت پروتئین میکروبی، ترشح آنزیم‌ها و سایر محصولات بیولوژیکی به وسیله میکروارگانیسم‌ها (۳۴) باشد. مقدار خاکستر خام در مقایسه با روز صفر، با افزایش زمان‌های پس از تخمیر از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد. پایین‌ترین مقدار خاکستر خام مربوط به زمان ۷ پس از تخمیر بود. در روز ۱۴، مقدار آن به طور معنی‌داری بالاترین مقدار بود که با زمان‌های ۲۱ و ۲۸ پس از تخمیر هم اختلاف معنی‌داری داشت. گزارش شده است که افزایش در مقدار خاکستر خام ممکن است به دلیل توانایی آسپرژیلوس نایجر جهت آزاد کردن آنزیم‌هایی مانند فیتاز که موجب افزایش زیست‌فراهمی فسفر فیتاتی می‌شود و ممکن است منجر به بهبود زیست‌فراهمی دیگر مواد معدنی مانند روی، منگنز، کلسیم، مس و آهن می‌گردند (۹). کاهش در مقدار نشاسته با افزایش زمان پس از تخمیر تا روز ۱۲ام، معنی‌دار نبود و برای روز ۲۸ به مقدار ۵ درصد کاهش داشت. این کاهش هم‌سو با کاهش ۱/۵۷ واحدی در pH از روز صفر تا روز ۲۸ پس از تخمیر بود. کاهش در pH ممکن است به دلیل تولید اسید به خصوص اسیدلاکتیک به وسیله لاکتوباسیل‌ها (۳۹) و اسیدسیتریک با آسپرژیلوس نایجر (۷) باشد. افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک در طی فرآیند تخمیر و در نتیجه افزایش تولید اسید (عمدتاً اسیدلاکتیک) موجب کاهش pH در محصول تخمیر می‌گردد. اثر هم‌افزایی همکاری بین قارچ آسپرژیلوس نایجر و باسیلوس سابتیلیس باعث بهبود فرایند تخمیر و کاهش بیش‌تر pH می‌شود. آسپرژیلوس نایجر با مصرف اکسیژن موجود باعث ایجاد محیط کاملاً بی‌هوازی برای رشد و فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی مانند باسیلوس سابتیلیس در بستر (سبوس ذرت) گردیده که سبب کاهش pH و اختصاصی شدن شرایط رشد برای باکتری‌های اسیدلاکتیکی می‌گردد. به دنبال آن باکتری‌های اسیدلاکتیکی تکثیر یافته و با مصرف منابع کربوهیدراتی و تولید اسید (عمدتاً اسیدلاکتیک) سبب کاهش بیش‌تر و پایدار pH در محصول تخمیر می‌شود (۸). چگالی توده سبوس گندم با افزایش زمان تخمیر روند افزایشی نشان داد و برای روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از تخمیر به طور معنی‌داری بالاتر بود که در تضاد با نتایج Adebowale

8. **Chiang, G., Lu, W.Q., Piao, X.S., Hu, J.K., Gong, L.M. and Thacker, P.A., 2010.** Effects of feeding solid- state fermented rapeseed meal on performance, nutrient digestibility, intestinal ecology and intestinal morphology of broiler chickens. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*. 23(2): 263-271. doi: 10.5713/ajas.2010.90145
9. **Habibi, A., 2023.** Multi-indicator decision making (definite and fuzzy). Naron Danesh Publications. 278 p. ISBN 9786222764814. (In Persian)
10. **Ferket, P.R., 1993.** Practical use of feed enzymes for turkeys and broiler. *Journal Applied Poultry Research*. 2(1): 75-81. doi: 10.1093/japr/2.1.75
11. **Francisco, K., Banda, E. and Simbaya, J., 2014.** Effects of Partially Replacing Maize meal in Broiler Finishing Diets with Rumen Filtrate Fermented-Maize Bran on Broiler Chicken Performance. *International Journal of Livestock Research*. 4(5): 28-34. doi: 10.5455/ijlr.20140723083643
12. **Garg, A.K., Singh, P. and Agarwal, D.K., 2002.** Effect of replacement of maize grain with wheat bran on the performance of growing lambs. *Small Ruminant Research*. 43(3): 227-234. doi: 10.1016/S0921-4488(02)00025-1
13. **Goldberg, I., Rokem, J.S. and Pinesm, O., 2006.** Organic acids: old metabolites, new themes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 81(10): 1601-1611. doi: 10.1002/jctb.1590
14. **Jazi, V., Boldaji, F., Dastar, B., Hashemi, S.R. and Ashayerizadeh, A., 2017.** Effect of fermented cottonseed meal on the growth performance, gastrointestinal microflora population and small intestinal morphology in broiler chickens. *British poultry Science*. 58(4): 402-408. doi: 10.1080/00071668.2017.1315051
15. **Lawal, T.E., Iyayi, E.A., Adeniyi, B.A. and Adaqraqmoye, A.Q., 2010.** Biodegradation of paqlm kernel cake with multienzyme complexes from fungi and its feeding value for broiler. *International Journal of Poultry Science*. 9(7): 695-701. doi: 10.3923/ijps.2010.695.701
16. **Li, W.F., Bai, J., Li, Y.L., Qin, Y. and Yu, D.Y., 2014.** Effects of *Bacillus subtilis* on meat quality, nutrient digestibility and serum biochemical index of broilers. *Chinian Journal Veteneri Science*. 34: 1682-1685.
17. **Licitra, G., Hernandez, T.M. and Van Soest, P.J., 1996.** Standardization of procedures for nitrogen

و Maliki (۶) بود. در این مطالعه تخمیر خوراک به مدت ۵ روز مقدار چگالی توده را از ۰/۸۰ به ۰/۶۳ کاهش داد. Shelton و همکاران (۲۶) گزارش کردند که فراوری خصوصیت فیزیکی خوراک را تغییر می دهد و این ممکن است در ارتباط با تغییر ترکیب شیمیایی هسته خرما به خصوص فیبر خام در طی فرآیند تخمیر باشد.

نتیجه گیری: نتایج این آزمایش نشان داد که فرآیند تخمیر میکروبی با ترکیبی از باکتری باسیلوس سابتیلیس و قارچ آسپرژیلوس نایجر سبب بهبود ارزش تغذیه ای سبوس ذرت می شود. براساس مدل تصمیم گیری چند شاخصه تاپسیس مؤثرترین و کارآمدترین مدت زمان تخمیر سبوس ذرت موقعی است که تخمیر میکروبی برای مدت زمان ۱۴ روز انجام شود.

منابع

1. **Adeleke, B.S., Akinyele, B.J., Olaniyi, O.O. and Jeff Agboola, Y.A., 2017.** Effect of fermentation on chemical composition of Cassava peels. *Pelagia Research Library*. 7(1): 31-38.
2. **Arun, K.P., Savaran, V.R., Mantena, V.L.N.R. and Sharma, S.R., 2006.** Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemico- lipid prefill of broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*. 43: 235-240. doi: 10.2141/jpsa.43.235
3. **Ashayerizadeh, A., Dastar, B., Shams Shargh, M., Sadeghi Mahoonak, A. and Zerehdaran, S., 2017.** Fermented rapeseed meal is effective in controlling *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* infection and improving growth performance in broiler chicks. *Veterinary Microbiology*. 201: 93-102. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.01.007
4. **Association of official analytical chemists. 2005.** Association of official analytical chemists, official methods of analysis. 18th (Ed). Maryland, USA.
5. **Atteh, J.O., 2004.** Theory and practice of poultry production. Adlek Printers, Ilorin, Nigeria.
6. **Babatunde, G.M., 1989.** Alternative formulation of livestock feeds in Nigeria. Ed. G.M. Babatunde, Presidency, Federal Republic of Nigeria.
7. **Babitha, S., Soccol, C. R. and Pandey, A., 2007.** Solid state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed. *Bioresurce Technology*. 98(8): 1554-1560. doi: 10.1016/j.biortech.2006.06.005

- bulk density of diets on growth performance of chicks. *Poultry Science*. 84: 1547- 1554.
28. Sugiharto, S. and Ranjitkar, S., 2018. Recent advances in fermented feeds towards improved broiler chicken performance, gastrointestinal tract microecology and immune responses: A review. *Animal Nutrition*. 5(1): 1-10. doi: 10.1016/j.aninu.2018.11.001
 29. Sun, H., Tang, J.W., Yao, X.H., Wu, Y.F., Wang, X. and Feng, J., 2012. Improvement of the nutritional quality of cottonseed meal by *Bacillus subtilis* and the adrodition of papain. *International Journal of Agriculture and Biology*. 14: 563-568.
 30. Supriyati, I., Haryati, T., Susanti, T. and Susana, W.R., 2015. Nutritional value of rice bran fermented by bacillus amyloliquefaciens and humic substances and its utilization as a feed ingredient for broiler chickens. *Asian Australian Journal Animal Science*. 28(2): 231-238. doi: 10.5713/ajas.14.0039
 31. Taheri, H.R., Moravej, H., Tabandeh, F., Zaghari, M. and Shivazad, M., 2009. Screening of lactic acid bacteria toward their selection as a source of chicken probiotic. *Poultry science*. 88(8): 1586-1593. doi: 10.3382/ps.2009.00041
 32. Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A., 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*. 74(10): 3583-3597. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2
 33. Van Winsen, R.L., Urlings, B.A.P., Lipman, L.J.A., Snijders, J.M.A., Keuzenkamp, D. and Verheijden, J.H.M., 2001. Effect of fermented feed on the microbial population of the gastrointestinal tracts of pigs. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(7): 3071-3076. doi: 10.1128/AEM.67.7.3071-3076.2001
 34. Vig, A.P. and Walia, A., 2001. Beneficial effects of *Rhizopus oligosporus* fermentation on reduction of glucosinolates, fiber and phytic acid in rapeseed meal. *Bioresource Technology*. 78(3): 309-312. doi: 10.1016/s0960-8524(01)00030-x
 35. Zhang, W.J., Xu, Z.R., Zhao, S.H., Sun, J.Y. and Yang, X., 2007. Development of amicrobial fermentation process for detoxification of gossypol in cottonseed meal. *Animal Feed Science and Technology*. 135(1): 176-186. doi: 10.1016/j.anifeeds.2006.06.003
 18. Longe, O.G., 1985. Effect of non-purified fibre from leafy vegetable on utilization of dietary nutrients in growing rats. *Nigerian Journal of Nutritional Sciences*. 4: 63-68.
 19. Luciana vandenbergh P.S., Soccol, C.R., Pandey, A. and Lebeault, M., 2000. Solid -state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*. 74(2): 175-178. doi: 10.1016/S0960-8524(99)00107-8
 20. Marini, A.M., Daud, M.J., Noraini, S., Jameah, H. and Azritionalae nuthan, E.A.E., 2005. Performance of locally isolated microorganism in degrading palm kernel cake (PKC) fiber and improving the nutritional value of fermented PKC. *Journal of Tropical Agriculture and food Science*. 33: 311-319.
 21. Mathivanan, R., Selvaraj, P. and Nanjappan, K., 2006. Feeding of fermented soybean meal on broiler performance *International Journal Poultry Science*. 5(9): 868-872. doi: 10.3923/ijps.2006.868.872
 22. Missotten, J.A., Michiels, J., Degroote, J. and De Smet, S., 2015. Fermented liquid feed for pigs: an ancient technique for the future. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 6(1): 4-12. doi: 10.1186/2049-1891-6-4
 23. Niba, A.T., Beal, J.D., Kudi, A.A.C. and Brooks, P.H., 2009. Potential of bacterial fermentation as a biosafe method of improving feeds for pigs and poultry. *African Journal of Biotechnology*. 8(9): 1758-1767.
 24. Oldale, P.M.O., 1996. Roche Nigeria Feed Seminar. Feb. 13.
 25. Oso, A.O., Li, L., Zhang, B., Lio, R., Fan, J.X, Wang, S., Jiang, G., Liu, H., Rahoo, T., Tossou, M.C., Pirgozliev, V., Oduguwa, O.O. and Bamgbose, A.M., 2015. Effect fungal fermentation with *Aspergillus niger* and enzyme supplementation on metabolizable energy values of unspeeled cassava root meal for meat- type cockerels. *Animal Feed Science and Technology*. 201: 281-286.
 26. Pandey, A., 1992. Recent process developments in solid state fermentation. *Process Biochem*. 27(2): 109-117. https://doi.org/10.1016/0032-9592(92)80017-W
 27. Shelton, J.L., Dean, D.W., Southern, L.L. and Bidner, T.D., 2005. Effect of protein and energy sources and

36. **Zhenhua, G., Haohao, W., Lin, S., Xiaohui, Z., Ran, S., Fuquan, Y. and Ravi, G., 2017.** Study of *Bacillus subtilis* on growth performance, nutrition metabolism and intestinal microflora of 1-42 d broiler chickens. *Animal Nutrition Journal*. 3(2): 109-113. doi: 10.1016/j.aninu. 2017.02.002
37. **Mazaheri, A., Shams Shargh, M., Ashayerizadeh, A. and Dastar, B., 2019.** Comparison the effects of raw and fermented sesame meal by solid state fermentation on performance, carcass characteristic, and intestinal morphology in broiler chickens. *Journal of Animal Environment*. 11(1): 139-144. (In Persian)
38. **Rajabzadeh Nesvan, M., Dastar, B., Ghoorchi, T., Ashayerizadeh, A. and Khomiri, M., 2019.** Evaluation of protein quality raw and fermented tomato pomace compared to soybean meal in broiler chickens. *Journal of Animal Environment*. 11(3): 69-76. (In Persian)
39. **Vandenberghe, L.P.S., Soccol, C.R., Pandey, A. and Lebeault, J.M., 2000.** Solid-state fermentation for the synthesis of citric acid by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*. 74(2): 175-178. doi: 10.1016/S0960-8524 (99)00107-8