



## بررسی شاخص‌های کیفی و فساد شیمیایی سیلاژ بیولوژیک تولیدشده از ضایعات مرغ و مقایسه آن با پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا

رضا صفری<sup>۱\*</sup>، زهرا یعقوب‌زاده<sup>۱</sup>، زهرا بانکه ساز<sup>۱</sup>، سهیل ریحانی پول<sup>۲</sup>، عبدالله جعفری<sup>۱</sup>، محمدمهدی عباس‌زاده<sup>۳</sup>

۱- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

۲- گروه فراوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- اداره کل شیلات استان مازندران، بابلسر، ایران.

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۲۵

#### کلمات کلیدی:

ضایعات مرغ،

بیوسیلاژ،

پودر ماهی کیلکا،

پودر گوشت.

DOI: 10.52547/fsct.18.121.16

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.18.2

\* مسئول مکاتبات:

safari1351@gmail.com

هدف از مطالعه حاضر تولید سیلاژ بیولوژیک از ضایعات مرغ بر پایه تخمیر باکتری‌های اتوژن و بررسی خصوصیات کیفی محصول است. جهت تولید این محصول از کشتارگاه‌های منتخب استان مازندران نمونه‌برداری انجام و بیوسیلاژ در قالب فرمانتور یک تنی با استفاده از باکتری‌های اتوژن جداسده از منطقه تولید شد (تخمیر). محصول نهایی (پودر خشک‌شده بیوسیلاژ) از نظر کیفی با استفاده از روش‌های استاندارد، مورد ارزیابی قرار گرفت و با منابع دیگر شامل پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا (تولیدشده به روش بیج) مقایسه گردید. نتایج نشان داد که میزان پروتئین، چربی و قابلیت هضم پروتئین در بیوسیلاژ تولیدشده به ترتیب ۵۹/۰۹، ۲۱/۳۰ و ۸۷/۴۱ درصد است. محصول تولیدشده از نظر شاخص‌های مذکور نسبت به پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا وضعیت بهتری داشت. بیوسیلاژ تولیدشده از نظر مقادیر کلسیم و فسفر با پودر خون اختلاف معنی‌داری ارائه نکرد ( $P>0.05$ ) و در سطح پائین‌تری نسبت به پودر ماهی کیلکا و پودر گوشت قرار داشت ( $p<0.05$ ). میزان TVN، PV و TBA در بیوسیلاژ به ترتیب ۴۶/۵۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم، ۴/۴۶ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم و ۲/۲۱ میلی‌گرم مالون‌دی‌آلدهید در کیلوگرم اندازه‌گیری شد که این شاخص‌ها در محصول تولیدشده در مقایسه با پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا در وضعیت بسیار مطلوب‌تری قرار دارند. در ادامه مشخص شد پارامترهای میکروبی (کپک، مخمر، باکتری‌های کلیفرم، کلیفرم مدفوعی، اشرشیاکلی) در نمونه‌های پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا در مقایسه با بیوسیلاژ ضایعات مرغ، نسبتاً بالاتر بوده است. بنابر نتایج تحقیق حاضر ضایعات مرغ قابلیت تبدیل به بیوسیلاژ با ویژگی‌های مطلوب را داراست که از آن می‌توان در صنایع کشاورزی، آبرزی پروری و طیور استفاده نمود.

## ۱- مقدمه

بر اساس اطلاعات مرکز آمار ایران (۱۳۹۸)، صنعت طیور رتبه دوم سرمایه‌گذاری کشور پس از صنعت نفت بوده و بیش از ۶۰٪ از پروتئین حیوانی مورد نیاز هر فرد ایرانی مربوط به گوشت و تخم طیور می‌باشد. این ویژگی، پرورش طیور را به فعالیت راهبردی تبدیل کرده است. ایران با تولید ۲/۷ میلیون تن گوشت مرغ در سال ۱۳۹۸ حائز رتبه هشتم در جهان بوده و سرانه مصرف گوشت طیور در کشور نیز ۳۲ کیلوگرم می‌باشد (دو برابر میانگین تولید جهانی) [۱]. ظرفیت اسمی ۱۸ کشتارگاه فعال طیور در استان مازندران، کشتار ۴۴۸۰۰۰ قطعه مرغ در هر شیفیت کاری بوده که معادل تولید بیش از ۱۰۰۰ تن گوشت مرغ در روز می‌باشد. میزان ضایعات غیرقابل استفاده مرغ پس کشتار، معادل ۱۶/۵ درصد بوده [۲] و از این رو پیش‌بینی ضایعات تولیدشده، روزانه تقریباً ۲۰۰ تن خواهد بود. این ضایعات شامل سر، پر، روده و خون می‌باشند. در حال حاضر در اکثر کشتارگاه‌های طیور، ضایعات مرغ به پودر گوشت و خون تبدیل می‌شود که به دلیل شرایط تولید کاملاً غیر بهداشتی و به واسطه بالابودن مؤلفه‌های فساد چربی و پروتئین (PV و TVN) دارای زمان ماندگاری بسیار پائینی می‌باشند. فرایند فساد در محصول تولیدشده بسیار بالا بوده و عدد TVN تا بالاتر از ۱۵۰ میلی‌گرم در صد گرم نیز گزارش شده است. از طرف دیگر درصد هضم پروتئین در پودر گوشت تولیدشده بسیار پائین است و به هنگام استفاده از آن در جیره غذایی طیور و آبزیان، میزان هدررفت آن بالا می‌باشد. در نتیجه بر نرخ رشد تأثیرگذار خواهد بود [۳].

مقدار روده، ۶ درصد از وزن کل مرغ را تشکیل می‌دهد که با بهره‌گیری از روش‌های زیست فناوری می‌توان آن را تبدیل به محصولاتی با ارزش افزوده بالا تبدیل نمود. یکی از این محصولات سیلاژ بوده که یک محصول تخمیری بر پایه واکنش‌های اتولیز، شیمیایی و یا میکروبی می‌باشد. این محصول کاربردهای متنوعی داشته و می‌توان از آن در صنایع کشاورزی (به عنوان کود بیولوژیک)، آبی پروری و طیور (در جیره غذایی دام و طیور و آبزیان به عنوان منبع جایگزین پروتئینی) استفاده نمود. در کشور بیشتر مطالعات پیرامون تولید بیوسیلاژ بیشتر با تکیه بر ضایعات آبزیان [۴ و ۵] انجام گرفته است. البته در جوامع علمی بین الملل هم به ضایعات آبزیان جهت تولید بیوسیلاژ توجه شده است [۶-۱۷]. از آنجا که

تاکنون مطالعه‌ای بر روی تولید سیلاژ از ضایعات مرغ در ایران انجام نشده، هدف تحقیق پیش رو تولید بیوسیلاژ از روده مرغ بر پایه تخمیر باکتری‌های اتوژن؛ ارزیابی ویژگی‌های کیفی این محصول و مقایسه آن با پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا است.

## ۲- مواد و روش

### ۲-۱- تولید بیوسیلاژ

برای انجام کار در مقیاس پایلوت نیاز به تولید اولیه بیوسیلاژ در مقیاس آزمایشگاهی بود تا پس از انجام آزمون و خطا و اتخاذ بهترین روش، جهت تهیه و آماده سازی امکانات و تجهیزات اولیه در مقیاس پایلوت اقدام شود. بدین منظور روده مرغ از مجتمع تولید گوشت در استان گلستان، شهرستان کردکوی و همچنین کشتارگاه صنعتی طیور سیمین ناز ساری تهیه و در مجاورت زنجیره سرد و در کوتاه‌ترین زمان به پایلوت فرآوری پژوهشکده اکولوژی دریای خزر انتقال داده شد و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از انجمادزدایی، نمونه‌ها چرخ و به فرمانتور یک تنی استیل انتقال داده شد. در مرحله بعد پس از غیرفعال کردن آنزیم‌های داخلی و همچنین باکتری‌های بیماری‌زای احتمالی (سالمونلا تیفی موریوم<sup>۱</sup> و اشریشیاکلی<sup>۲</sup>) با استفاده از تیمار حرارتی (۷۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه)، دمای فرمانتور به دمای محیط کاهش داده شد تا شرایط ثابت گردد. سپس از باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین (واجد آنزیم پروتئاز مانند باکتری‌های گرم مثبت اسپوردار) و باکتری‌های تولیدکننده اسید (جهت کاهش pH سوسپانسیون و تسریع نمودن فرآیند تخمیر مانند باکتری‌های لاکتیک) تحت عنوان باکتری‌های آغازگر یا استارترهای میکروبی جهت هضم روده استفاده شد. لازم به ذکر است که باکتری‌های مورد استفاده انحصاری بوده و دارای ویژگی‌هایی نظیر رشد در pH اسیدی، توانایی رشد در دمای ۷۰ درجه تا ۶ ساعت و همچنین خواص پروتئازی بالا می‌باشند. به هنگام اضافه نمودن استارترهای میکروبی، منبع کربوهیدرات (ملاس نیشکر) به طور توأمان نیز اضافه گردید. در مرحله نهایی، دمای فرمانتور در محدوده ۴۵-۴۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در این

1. *Salmonella typhimurium*

2. *Escherichia coli*

= درصد نیتروژن

$$\frac{(100 \times 14 \times \text{نرمالیت اسید} \times \text{حجم اسید مصرفی برای نمونه})}{(1000 \times \text{گرم نمونه خشک})}$$

(فاکتور پروتئین)  $\times \frac{6}{25}$  درصد نیتروژن = درصد پروتئین خام

## ۲-۲-۲- خاکستر

۵ گرم از نمونه (بیوسیلایز و پودرهای شاخص) به داخل کروزه منتقل و سپس بر روی شعله حرارت داده شد. حرارت دادن تا عدم تصاعد دود از کروزه ادامه داشت. کروزه‌ها در داخل کوره و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت حرارت داده شدند. با ظاهر شدن خاکستر سفید، نمونه‌ها از کوره خارج و برای سرد شدن در داخل دسیکاتور قرار داده شدند و سپس وزن آن‌ها مشخص گردید [۱۹ و ۲۰]. درصد خاکستر با فرمول ذیل محاسبه گردید.

$$100 \times (\text{وزن نمونه خشک} / \text{وزن خاکستر}) = \text{درصد خاکستر}$$

## ۲-۲-۳- رطوبت

پتری‌های حاوی نمونه (بیوسیلایز و پودرهای شاخص) (۱۰ گرم) به مدت ۶ ساعت در آن ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس جهت سرد شدن به دسیکاتور منتقل و در نهایت وزن آن‌ها ثبت گردید [۱۹ و ۲۱]. برای محاسبه میزان رطوبت نمونه از رابطه زیر استفاده شد. در این رابطه  $m_1$  وزن ظرف و نمونه قبل از خشک کردن،  $m_2$  وزن ظرف و نمونه بعد از خشک کردن و  $m_0$  وزن نمونه است.

$$100 \times [(m_1 - m_2) / m_0] = \text{درصد رطوبت}$$

## ۲-۲-۴- چربی

مقدار ۲۰ گرم از نمونه (بیوسیلایز و پودرهای شاخص) به داخل دکانتور ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. سپس ۱۶۰ میلی‌لیتر متانول و به همین میزان کلروفرم به دکانتور اضافه گردید. با اضافه کردن آب مقطر به مجموعه، فازها از یکدیگر جدا شدند. نسبت متانول، کلروفرم و آب ۲:۲:۱/۶ بود. سپس لایه کلروفرمی محتوی چربی به وسیله دستگاه روتاری خارج گردید. با خروج حلال و توزین مجدد بالن، مقدار چربی نمونه بر حسب درصد با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد [۱۹، ۲۲ و ۲۳].

$$100 \times (\text{وزن اولیه} / \text{وزن نمونه چربی}) = \text{درصد چربی}$$

## ۲-۲-۵- کلسیم و فسفر

فسفر کل با استفاده از روش رنگ‌سنجی وانادوملیو فسفریک-اسید و کلسیم با استفاده از اسپکتروفتومتر جذب اتمی (AAS) اندازه‌گیری شد [۱۹].

شرایط قرار گرفتن در طی انجام فرآیند، همزن فرماتور در فواصل زمانی معین فعال و نمونه‌ها کاملاً هموژن شدند. پس از اتمام فرآیند، نمونه‌ها از دستگاه جداکننده یا سپراتور عبور داده شد تا روغن موجود در نمونه جدا گردد. این امر باعث می‌گردد که نمونه‌ها بهتر خشک شده و زمان ماندگاری آن نیز افزایش یابد (درصد روغن جدا شده با استفاده از دستگاه سپراتور بین ۱۰-۱۲ درصد بود). بعد از جدا کردن روغن از نمونه اصلی حاوی پروتئین تجزیه‌شده، با اضافه نمودن کنجاله کنجد، مقدار ماده خشک در نمونه‌های تخمیرشده را افزایش داده تا در نهایت خشک کردن محصول با کیفیت بهتری انجام گیرد. نمونه‌ها با استفاده از خشک‌کن صنعتی و در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶-۸ ساعت خشک شدند. در مرحله نهایی، نمونه‌ها با استفاده از دستگاه آسیاب به مش‌های یکسان تبدیل و بسته‌بندی و در مکان خشک و خنک نگهداری شدند.

## ۲-۲- ترکیب شیمیایی تیمارها

### ۲-۲-۱- پروتئین خام

برای اندازه‌گیری پروتئین خام، ۱ گرم نمونه (بیوسیلایز و پودرهای شاخص) و ۸ گرم کاتالیزور پروتئین (شامل ۱۰۰ گرم سولفات سدیم یا پتاسیم و ۱۰ گرم سولفات مس و ۱ گرم پودر سلنیوم) و ۲۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ را داخل بالن هضم کج‌دال ریخته و بالن روی حرارت قرار داده شد. در انتها مایع بی‌رنگی در ته بالن ماند. عمل هضم زیر محوطه سرپوشیده مجهز به ونتیلاتور انجام شد. چرا که بخارات متصاعدشده از بالن هضم سوزاننده است. مرحله بعدی تقطیر ماده هضم‌شده بود که به بالن حاوی نمونه هضم، ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و سود ۵۰ درصد اضافه گردید و روی حرارت قرار داده شد. چون واکنش گرمازا است، قسمت‌های اتصال دستگاه کنترل شد تا از خروج گازهای متصاعدشده به خارج جلوگیری گردد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر اسیدبوریک و چند قطره معرف متیل رد را داخل یک ارلن ریخته و در زیر رفريژران محل تقطیر قرارداد شد؛ به طوری که انتهای لوله متصل به رفريژران در حدود ۲ میلی‌لیتر در محلول اسیدی غوطه‌ور گردد. میزان نیتروژن آزاد در ارلن جمع شده و وارد محلول اسیدی ۰/۱ نرمال شد. در مرحله بعد، این عمل آنقدر ادامه یافت تا هیچگونه تغییر رنگی در لوله مشاهده نشد. در پایان محتوای ارلن توسط اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تیترا شد [۱۸ و ۱۹]. میزان پروتئین خام از روابط زیر به دست آمد.

## ۲-۳- سنجش قابلیت هضم پروتئین تیمارها به

## روش in-vitro

قابلیت هضم نمونه‌ها با استفاده از روش هضم در آنزیم پپسین به شرح زیر بررسی شد. بدین ترتیب که ۲ گرم نمونه به یک ارلن‌مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد. در مرحله بعد، ۴۵۰ میلی‌لیتر از محلول پپسین - هیدروکلریک اسید (این محلول از حل شدن ۰/۲ گرم آنزیم پپسین با فعالیت ۲ واحد در هر میلی‌گرم، در یک لیتر محلول ۰/۰۷۵ مولار هیدروکلریک اسید تهیه شد) که قبلاً تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گرم شده بود، به ارلن‌مایر ذکر شده اضافه گردید. مخلوط نمونه و محلول پپسین - هیدروکلریک‌اسید به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از این مدت، ۱۵ میلی‌لیتر از هیدروکلریک‌اسید به آن اضافه و تا دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد خنک گردید. سپس با استفاده از کاغذ صافی، مخلوط فوق صاف و میزان پروتئین خام موجود در بقایای هضم‌شده با استفاده از روش کج‌لدال تعیین گردید [۲۴]. درصد قابلیت هضم در پپسین پروتئین خام نمونه‌ها با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

= پروتئین خام هضم شده

پروتئین خام موجود در بقایای هضم نشده- پروتئین موجود در نمونه اولیه

= % پروتئین قابل هضم نمونه

۱۰۰ × وزن نمونه / پروتئین خام هضم شده

= % قابلیت هضم پروتئین خام

۱۰۰ × درصد پروتئین خام نمونه / پروتئین قابل هضم نمونه

## ۲-۴- اندازه‌گیری شاخص‌های فساد شیمیایی

## ۲-۴-۱- عدد پراکسید (PV)

برای تعیین مقدار پراکسید ابتدا ۱۵ گرم از نمونه (بیوسیلاژ و پودرهای شاخص) که به خوبی مخلوط شده بود، در دکانتر ۵۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر کلروفرم به آن اضافه گردید. پس از تکان دادن، مجدداً ۳۰ میلی‌لیتر کلروفرم و بعد ۶۰ میلی‌لیتر متانول به آن افزوده شد. پس از ۱۲-۲۴ ساعت، ۳۶ میلی‌لیتر آب مقطر به نمونه اضافه و مخلوط به مدت ۱-۲ ساعت تا تشکیل سه فاز استراحت داده شد. با دقت، ۲۰ میلی‌لیتر از فاز پایین به ارلن‌مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری سر سمباده‌ای منتقل و ۲۵ میلی‌لیتر اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسید استیک ۳:۲) به آن اضافه گردید. در مرحله

بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع (که به صورت تازه آماده شد و در تاریکی قرار گرفت) و ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر به محتویات ارلن اضافه گردید و پس از نهادن درب آن، به مدت ۱ دقیقه در تاریکی استراحت داده شد. سپس مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر معرف نشاسته ۱ درصد به آن افزوده و پس از بستن درب ارلن، محلول به شدت تکان داده شد. ید آزادشده، باعث تغییر رنگ محلول شد که با محلول تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال، تا بیرنگ شدن محلول یا ظهور رنگ شیری و شفاف شدن فاز بالایی روغن تیترا گردید [۲۵ و ۲۶]. میزان پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در یک کیلوگرم چربی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

= عدد پراکسید

وزن نمونه روغن / ۱۰۰ × حجم تیوسولفات مصرفی × نرمالیت

## ۲-۴-۲- تیوباربتوریک‌اسید (TBA)

برای اندازه‌گیری TBA ابتدا ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه (بیوسیلاژ و پودرهای شاخص) به بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل و با ۱- بوتانول به حجم رسانده شد. سپس ۵ میلی‌لیتر از این محلول به لوله فالکون خشک درب دار انتقال داده شد. در مرحله بعد، ۵ میلی‌لیتر معرف TBA (که از انحلال ۲۰۰ میلی‌گرم پودر TBA در ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال ۱-بوتانول و صاف کردن بوسیله کاغذ صافی به دست آمده) به آن اضافه گردید. لوله‌ها در بن‌ماری با دمای ۹۵ درجه سلسیوس، به مدت ۲ ساعت قرار داده و سپس در دمای محیط سرد شدند. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن‌ها (As) در ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد آب مقطر (Ab) قرائت گردید. با استفاده از رابطه زیر، میزان TBA (بر حسب میلی‌گرم مالون دی آلدئید در هر کیلوگرم از نمونه) محاسبه شد [۲۶-۲۸].

$TBA = [(As - Ab) \times 50] / 200$

## ۲-۴-۳- بازهای از ته فرار (TVN)

ابتدا ۱۰ گرم از نمونه (بیوسیلاژ و پودرهای شاخص) و ۲ گرم اکسیدمنیزیم در یک بالن کلدال توزین گردید. سپس ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲ قطره اکتانول (به عنوان ضد کف) و تعدادی ساچمه شیشه‌ای (یا سنگ جوش به منظور بهتر صورت گرفتن انتقال حرارت و به دام افتادن حباب‌های حاصل از عمل جوش در داخل فضای متخلخل و محبوس‌شده‌ی آن و جلوگیری از پریدن مایع) نیز به محتویات بالن افزوده گردید. سپس سیستم کلدال نصب شد و در زیر لوله خروجی سیستم،

تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر (log cfu/ml) محاسبه گردید [۳۲ و ۳۳].

#### ۲-۵-۳- شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک<sup>۴</sup>

برای شمارش باکتری‌های گروه لاکتیک از محیط کشت MRS آگار<sup>۵</sup> استفاده گردید. برای ایجاد محیط بی‌هوازی، پلیت‌های کشت داده شده به جار بی‌هوازی حاوی گاز پک C قرار منتقل و در انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند [۳۴]. پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌ها بعد از شمارش در عکس رقت مورد استفاده ضرب و سپس لگاریتم آن‌ها گرفته شد تا لگاریتم تعداد کلنی در واحد وزن (log cfu/g) به دست آید.

#### ۲-۵-۴- شمارش کپک و مخمر

برای شمارش قارچ‌ها از محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار<sup>۶</sup> (PDA) استفاده گردید. بدین ترتیب که ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه شده به صورت سطحی بر روی محیط مذکور کشت داده شد و نمونه‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۲۵-۲۲ درجه گرمخانه‌گذاری شدند. تعداد کلنی‌های کپک و مخمر شمارش و با احتساب رقت مورد استفاده، محاسبه شدند [۳۵].

#### ۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

جهت آنالیز نتایج از نرم افزار SPSS (version 18) و به منظور بررسی ارتباط معنی‌دار بین گروه‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و برای مقایسه میانگین داده‌ها در درون گروه‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تمام داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شدند.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ترکیب بیوشیمیایی بیوسیلار در مقایسه با

##### پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا

نتایج آنالیز اولیه بیوسیلار تهیه‌شده از روده مرغ (حاوی ۳ درصد کنجاله کنجد)، پودر ماهی کیلکا، پودر گوشت و پودر خون (محصولاتی که بطور سنتی از ضایعات مرغ در کشتارگاه‌های صنعتی تولید می‌گردند) در جدول ۱ ارائه شده

ارلنی ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۲۵ میلی‌لیتر اسیدبوریک ۲ درصد دارای ۲-۳ قطره معرف متیل رد قرار گرفت. به طوری که سرلوله خروجی کاملاً درون محلول ارلن قرار داشته باشد. سپس گازهایی که معرف بازهای نیتروژنه فرار هستند پس از برقراری جریان آب سرد و روشن‌شدن هیتر، متصاعد شدند که این فرایند به صورت تغییر رنگ محلول از ارغوانی به زرد نمایان شد. در نهایت این محلول با اسیدسولفوریک ۰/۱ نرمال تا ارغوانی‌شدن مجدد محلول تیترا گردید [۲۹].

حجم اسید سولفوریک مصرفی  $14 \times$  = بازهای از ته فرار

#### ۲-۵-۵- بررسی پارامترهای میکروبی

##### ۲-۵-۱- شمارش کلی باکتری‌ها

جهت تعیین شمارش کلی باکتری‌ها در نمونه‌های تهیه‌شده (بیوسیلار و پودرهای شاخص)، از محیط کشت تریپتیک سوی آگار (TSA<sup>۳</sup>) استفاده گردید. پس از تهیه رقت‌های متوالی از نمونه‌های اولیه، ۰/۱ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط کشت مذکور به طور سطحی پخش گردید. در صورت نیاز (بالابودن تعداد باکتری‌ها در یک پلیت) رقیق‌سازی نمونه‌ها (تا لوگ ۶) در محلول سرم فیزیولوژی انجام شد و پلیت‌های کشت داده شده مربوط به کل باکتری‌ها بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۵ درجه شمارش شدند. پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌ها بعد از شمارش، در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و لگاریتم تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر (log cfu/ml) محاسبه گردید [۳۰-۳۲].

##### ۲-۵-۲- شمارش باکتری‌های گروه کلی‌فرم‌ها و

##### اشرشیاکلی

جهت شمارش کلی‌فرم‌ها، کلی‌فرم‌های مدفوعی و اشرشیاکلی، از محیط کشت ECC کروم آگار استفاده گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت‌های تهیه‌شده روی محیط کشت مذکور به طور سطحی کشت داده شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت به طور همزمان در دو دمای ۳۵ و ۴۴/۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. رشد کلنی‌های متمایل به آبی در هر دو دما، نشان‌دهنده وجود اشرشیاکلی می‌باشد. رشد کلنی‌های قرمز در دمای ۳۵ درجه و ۴۴/۵ درجه به ترتیب نشان‌دهنده کل کلی‌فرم و کلی‌فرم مدفوعی می‌باشد. پس از اتمام زمان انکوباسیون، کلنی‌ها بعد از شمارش، در عکس رقت مورد استفاده ضرب شده و لگاریتم

4. Lactic Acid Bacteria  
5. De Man, Rogosa and Sharpe  
6. Potato Dextrose agar

3. Tryptic Soy Agar

قابلیت هضم پروتئین پودر ماهی کیلکا تقریباً مشابه با بیوسیلژ و پودر خون است اما اختلاف آن‌ها معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.05$ ). کمترین قابلیت هضم پروتئین ( $6.7/4.8$  درصد) مربوط به پودر گوشت بود ( $p < 0.05$ ). مقادیر کلسیم و فسفر در بیوسیلژ و پودر خون تقریباً یکسان بوده ( $P > 0.05$ ) و در سطح پائین‌تری نسبت به پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا ( $P > 0.05$ ) قرار داشتند ( $p < 0.05$ ). میزان کربوهیدرات در بیوسیلژ  $4/17$  درصد گزارش شد.

است. مطابق این جدول میزان پروتئین در بیوسیلژ تولیدشده  $59/09$  درصد است که نسبت به پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا ( $P > 0.05$ ) در سطح بالاتری قرار دارد ( $p < 0.05$ ). میزان چربی در بیوسیلژ معادل  $21/3$  درصد گزارش شده است که اختلاف معنی‌داری با پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا ندارد ( $P > 0.05$ ). همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، قابلیت هضم پروتئین بیوسیلژ  $87/41$  درصد است و از این نظر اختلاف معنی‌داری با پودر خون ندارد ( $P > 0.05$ ). اگر چه

**Table 1** Qualitative analysis of biosilage produced from chicken intestine and comparison with traditional products of meat, blood meal and kilka fish meal (%)

Factor	Biosilage	Meat	Blood meal	Kilka fish meal
Protein	59.09±0.49 <sup>b</sup>	55.93±0.21 <sup>c</sup>	83.33±0.33 <sup>a</sup>	56.25±1.25 <sup>c</sup>
Moisture	9.32±0.61 <sup>a</sup>	8.87±0.38 <sup>ab</sup>	9.73±0.25 <sup>a</sup>	10.21±0.3 <sup>a</sup>
Fat	21.3±0.45 <sup>a</sup>	20.47±0.41 <sup>ab</sup>	1.75±0.031 <sup>c</sup>	22.31±1.11 <sup>a</sup>
Ash	6.17±0.17 <sup>c</sup>	14.11±0.22 <sup>a</sup>	5.06±0.048 <sup>c</sup>	11.25±0.73 <sup>b</sup>
Apparent digestibility	87.41±2.06 <sup>a</sup>	46.48±1.53 <sup>c</sup>	89.63±2.11 <sup>a</sup>	76.32±2.26 <sup>b</sup>
Carbohydrates	4.17±0.084			
Calcium	1.36±0.025 <sup>b</sup>	2.45±0.03 <sup>a</sup>	1.16±0.021 <sup>b</sup>	2.25±0.027 <sup>a</sup>
Phosphorus	0.62±0.016 <sup>b</sup>	1.17±0.018 <sup>a</sup>	0.52±0.014 <sup>b</sup>	1.36±0.022 <sup>a</sup>

\*Different letters in each row indicate a significant difference between the data ( $p < 0.05$ ).

نتیجه خوبی به همراه ندارد و ضریب تبدیل غذایی را افزایش می‌دهد. این امر یعنی هزینه زیاد و سود آوری پائین. همانطوری که در جدول ۱ نشان داده شده، میزان پروتئین بیوسیلژ و پودر ماهی کیلکا نزدیک به هم می‌باشد. این در حالی است که قابلیت هضم پروتئین در بیوسیلژ بیشتر از پودر کیلکا می‌باشد. علت این امر وجود باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین در فرآیند تولید بیوسیلژ بوده که با تولید آنزیم‌های پروتئاز، پروتئین‌ها را هیدرولیز کرده و به پپتیدهایی با وزن مولکولی پائین تبدیل می‌کنند. این روند قابلیت هضم و همچنین حلالیت پروتئین را افزایش داده و زمان بسیار کمتری صرف هضم و جذب آن شده و از طرف دیگر میزان هدررفت پروتئین مصرفی به مراتب کاهش می‌یابد.

### ۳-۲- فاکتورهای فساد شیمیایی در بیوسیلژ

#### در مقایسه با پودر گوشت، پودر خون و پودر

#### ماهی کیلکا

نتایج آزمایش فاکتورهای شیمیایی مولد فساد در بیوسیلژ تولیدشده از روده مرغ و مقایسه آن با پودر گوشت، پودر خون و همچنین پودر ماهی کیلکا در جدول ۲ ارائه شده است. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، از بین تیمارها، کمترین مقدار TVN ( $6/56$  میلی‌گرم در  $100$  گرم) مربوط

در کشتارگاه‌های صنعتی مرغ، هیچ گونه جداسازی اولیه‌ای در خصوص پر و روده صورت نگرفته و ضایعات مورد نظر به صورت مخلوط وارد دیگ پخت شده و تحت فشار، دما و زمان تعریف‌شده، پخت و پس از خشک‌شدن جمع‌آوری می‌شوند. دمای بالا در فرآیند پخت، باعث دناتوره کردن ساختار پروتئین‌ها شده و در نتیجه خواص کارکردی آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. وجود پر در پودر گوشت، نه تنها خاکستر محصول را افزایش می‌دهد بلکه کیفیت محصول از نگاه استفاده در آبرزی پروری را نیز کاهش می‌دهد. زیرا به دلیل عدم کارایی پر در جیره غذایی، ضریب تبدیل غذایی ماهی افزایش می‌یابد. قابلیت هضم پروتئین در پودر گوشت حاصل از ضایعات طیور نسبت به سایر تیمارها پائین‌تر است که این امر به دلیل وجود پر در پودر می‌باشد که قابلیت هضم را کاهش می‌دهد. این امر به هنگامی که پودر پر در جیره غذایی ماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد نمایان‌تر شده و ارزش کیفی جیره را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. متأسفانه برخی از تولیدکنندگان خوراک آبزیان اقدام به استفاده از پودر پر در جیره تولیدشده می‌کنند تا میزان پروتئین کل جیره را افزایش دهند. در حالیکه پروتئین مورد استفاده قابلیت هضم پایینی داشته و به هنگام استفاده در مزارع ماهیان سردآبی و یا گرمابی،

در بیوسیلایژ و پودر ماهی کیلکا تقریباً برابر است ( $P > 0.05$ ). ضمن اینکه کمترین میزان این شاخص ( $1/24$  میلی گرم مالون-دی آلدئید بر کیلوگرم) در بین تیمارها در پودر خون ثبت شد ( $P < 0.05$ ).

به بیوسیلایژ است ( $P < 0.05$ ). عدد پراکسید در بیوسیلایژ  $4/66$  میلی اکی والان بر کیلوگرم گزارش شد که نسبت به پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا کمتر است ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار عدد پراکسید ( $1/45$  میلی اکی والان بر کیلوگرم) مربوط به پودر خون می باشد ( $P < 0.05$ ). مطابق جدول ۲، مقدار TBA

Table 2: Chemical parameters of spoilage in biosilage produced from chicken waste and their comparison with traditional products of meat, blood meal and Kilka fish meal

Treatment/Factor	TVN (mg/100g)	PV (meq/kg)	TBA (mg MDA/kg)
Biosilage	46.56±1.26 <sup>d</sup>	4.46±0.36 <sup>c</sup>	2.21±0.11 <sup>b</sup>
Meat	123.36±4.63 <sup>b</sup>	12.36±0.74 <sup>a</sup>	8.25±0.63 <sup>a</sup>
Blood meal	136.46±3.25 <sup>a</sup>	1.45±0.03 <sup>d</sup>	1.24±0.08 <sup>c</sup>
Kilka fish meal	56.33±2.74 <sup>c</sup>	5.45±0.32 <sup>b</sup>	2.85±0.36 <sup>b</sup>

\*Different letters in each column indicate a significant difference between the data ( $p < 0.05$ ).

ماهی، نشده است. بنابراین در تولید بیوسیلایژ یا پودر گوشت بایستی مطابق استاندارد پودر ماهی عمل شود تا اولاً محصولات تولیدشده با کیفیت و کارایی مناسب عرضه شوند. ثانیاً از نظر قیمت نیز قابل رقابت با پودر ماهی باشد.

### ۳-۳- پارامترهای میکروبی بیوسیلایژ، پودر

#### گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا

نتایج آزمایش پارامترهای میکروبی شاخص در بیوسیلایژ تولیدشده از روده مرغ و مقایسه آن با پودر گوشت، پودر خون و همچنین پودر ماهی کیلکا در جدول ۳ ارائه شده است. مطابق این جدول بیشترین میزان شمارش کل باکتری‌ها مربوط به بیوسیلایژ است ( $P < 0.05$ ). ضمن اینکه پودر خون و پودر گوشت از این نظر اختلاف قابل ملاحظه‌ای ندارند ( $P > 0.05$ ). میزان بار کپک و مخمر در سه محصول پودر خون، پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا ( $P > 0.05$ ) بیشتر از بیوسیلایژ است ( $P < 0.05$ ). جمعیت باکتری‌های کلی فرم، کلی فرم مدفوعی و اشریشیاکالی در بیوسیلایژ به صورت معنی‌داری کمتر از سه محصول مذکور است ( $P < 0.05$ ). عکس این نتیجه در مورد باکتری‌های لاکتیک اسید گزارش شده است.

در بیوسیلایژ تولیدشده، به لحاظ اضافه نمودن آغازگرهای میکروبی (باسیلوس‌ها و باکتری‌های لاکتیک)، انتظار بر این است که پس از اتمام فرایند، جمعیت باکتری‌های مذکور به طور معنی‌داری افزایش یابد. علاوه بر این، به لحاظ ماهیت پروبیوتیکی باکتری‌های مورد استفاده، محصول تولیدشده یک محصول پروبیوتیک‌دار است و پیش‌بینی می‌گردد که زمان ماندگاری آن در مقایسه با نمونه شاهد طولانی‌تر باشد و درصد

نتایج پارامترهای شیمیایی مولد فساد در بیوسیلایژ تولیدشده و نمونه‌های سنتی (پودر گوشت، خون و کیلکا)، حاکی از بالابودن TVN در پودر خون و گوشت تهیه‌شده از ضایعات مرغ می باشد (جدول ۲). علت بالابودن این فاکتور، ناشی از تهیه، بسته‌بندی و نگهداری پودر به روش سنتی و بالابودن جمعیت میکروب‌های تجزیه‌کننده پروتئین در محصول بوده که باعث افزایش TVN در مدت زمان کوتاه‌تر می‌گردد. بالاتر بودن TVN در پودر خون در مقایسه با پودر گوشت نیز به درصد پروتئین در پودر خون مرتبط می‌باشد. مقادیر عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های سنتی در مقایسه با بیوسیلایژ به نسبت بیشتر بوده است. این دو پارامتر به ترتیب شاخص فساد اولیه و ثانویه چربی بوده که در طولانی مدت باعث فساد اکسیداتیو محصول می‌شوند. فساد چربی ناشی از افزایش باکتری‌های تجزیه‌کننده چربی (تولیدکننده آنزیم لیپاز) و آنزیم‌های لیپاز درون سلولی می‌باشد. آزمون‌های کنترل کیفی که برای پودر ماهی انجام می‌گیرد شامل ۱۲ آزمون استاندارد بوده که پارامترهای کیفی، میکروبی و شیمیایی و همچنین آفلاتوکسین‌ها را شامل می‌شود. متأسفانه استانداردهای مذکور برای پودر گوشت و خون تهیه‌شده از ضایعات مرغ تعریف نشده و محصولات تولیدشده دارای ناخالصی‌های مختلفی می‌باشند. از طرفی به لحاظ قیمت پائین‌تر پودر گوشت و خون در مقایسه با پودر ماهی، بازار خرید و فروش آن‌ها نیز رونق دارد. در استاندارد شماره ۸۹۲۳ موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی که در خصوص پودر بقایای کشتارگاه طیور می‌باشد [۳۰]، هیچگونه اشاره‌ای به پارامترهای شیمیایی و میکروبی شاخص فساد و بیماری، مشابه پودر

آوری دپو، احتمال آلودگی ثانویه آن‌ها به مراتب افزایش می‌یابد.

بنابراین در پودر گوشت و خون، به دلیل افزایش بار میکروب‌های مختلف فرصت‌طلب و مولد فساد، افزایش توأمان پارامترهای شیمیایی مولد فساد نظیر TVN، PV و همچنین آمین‌های بیوژن (هیستامین، کاداورین، پوتری سین و...) نیز در نگهداری محصول رخ خواهد داد.

آلودگی میکروبی آن نیز کاهش یابد. این موضوع در حد فرضیه بوده و در مرحله بعد بایستی به طور کامل مورد بررسی قرار گیرد. آلودگی به پارامترهای میکروبی در نمونه‌های پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا در مقایسه با بیوسیلژ ضایعات مرغ، نسبتاً بالا است که این امر به دلیل استفاده از روش سنتی و غیربهداشتی در فرآیند تولید پودرگوشت و خون بوده و به لحاظ ارزش غذایی بالا و شرایط نامناسب جمع

**Table 3** Microbial parameters (logarithm of number per gram) in biosilage prepared from chicken intestine and their comparison with traditional products of meat, blood meal and kilka fish meal

Factor/Treatment	Biosilage	Meat	Blood meal	Kilka fish meal
Total bacterial count	9.54±0.46 <sup>a</sup>	7.85±0.31 <sup>b</sup>	8.16±0.27 <sup>b</sup>	7.25±0.21 <sup>c</sup>
Mold and yeast	2.15±0.016 <sup>b</sup>	5.48±0.43 <sup>a</sup>	5.48±0.31 <sup>a</sup>	5.86±0.11 <sup>a</sup>
Coliform	<1 <sup>c</sup>	3.25±0.38 <sup>b</sup>	4.13±0.25 <sup>a</sup>	3.54±0.14 <sup>b</sup>
Fecal coliform	<1 <sup>c</sup>	2.56±0.23 <sup>b</sup>	3.67±0.43 <sup>a</sup>	2.21±0.27 <sup>b</sup>
E.coli	<1 <sup>c</sup>	2.11±0.18 <sup>b</sup>	3.11±0.25 <sup>a</sup>	<1 <sup>c</sup>
Lactic acid bacteria	8.45±0.57 <sup>a</sup>	<1 <sup>b</sup>	<1 <sup>b</sup>	<1 <sup>b</sup>

\*Different letters in each row indicate a significant difference between the data (p<0.05).

ماهی کیلکا از نظر شاخص‌های فساد شیمیایی (TVN, PV, TBA) وضعیت بسیار مطلوب‌تری دارد. پارامترهای میکروبی در نمونه‌های پودر گوشت، پودر خون و پودر ماهی کیلکا در مقایسه با بیوسیلژ تولیدشده از ضایعات مرغ، نسبتاً بالاتر است.

## ۵- سپاسگزاری

محققین تحقیق حاضر بر خود لازم می‌دانند از اداره کل شیلات استان مازندران و پژوهشکده اکولوژی دریای خزر تشکر و قدردانی نمایند.

## ۶- منابع

- [1] Safaiei, A.R and Shahali, B. 2019. Investigating the methods of collecting information on industrial poultry farming in Iran. Program and budget organization, Statistical Center of Iran. 7p
- [2] Zaghari, M. 2017. Challenges of poultry production and nutrition in Iran. *Strategic Research Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 3(2), 169-180.
- [3] Dale, N. Fancher, B. Zumbado, M. and Villacres, A. 1993. Metabolizable energy content of poultry offal meal. *J. Appl. Poult. Res.* 2, 40-42.
- [4] Safari, R. Nasrollahzadeh, H. Farabi, M. Jafari, A. and Ebrahimzade, M. 2018.

این امر به دلیل افزایش جمعیت باکتری‌های تولیدکننده آنزیم پروتئاز و لیپاز می‌باشد که باعث تجزیه پروتئین و چربی موجود در محصول می‌شود و با تجزیه این عوامل، پارامترهای فساد شیمیایی نیز افزایش می‌یابد. در مورد پودر ماهی کیلکا، شرایط کمی متفاوت‌تر بوده و روش تولید به صورت صنعتی می‌باشد. ولی با این وجود به لحاظ دپوی پودر تولیدشده در کف کارخانه و دمای بالای آن (به لحاظ استفاده از دمای بالا در فرآیند تولید)، زمینه برای جذب رطوبت و آلودگی‌های موجود در هوای اطراف مهیا شده و اسپورهای قارچی پراکنده در محیط جذب پودر شده و پس از مهیاشدن شرایط دمایی، اقدام به رشد و تکثیر کرده و انواع توکسین‌ها را تولید می‌کنند (مایکوتوکسین‌ها). از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌توان به آفلاتوکسین، اخراآتوکسین، فوزاریوتوکسین و ... اشاره نمود که باعث بروز انواع جهش‌ها و سرطان‌ها در حیوانات و انسان می‌گردند.

## ۴- نتیجه‌گیری

با استفاده از تکنولوژی جدید می‌توان از ضایعات مرغ بیوسیلژ تولید کرد که یک محصول با ارزش افزوده بالا می‌باشد. میزان پروتئین و قابلیت هضم پروتئین در این محصول در مقایسه با پودر گوشت و پودر ماهی کیلکا در سطح بالاتری قرار دارد. همچنین بیوسیلژ تولیدشده نسبت به پودر گوشت و پودر



- ray and shark visceral waste by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 99, 6246-6257.
- [14] Shabani, A. Jazi, V. Ashayerizadeh, A. and R. Barekatin, R. 2019. Inclusion of fish waste silage in broiler diets affects gut microflora, cecal short-chain fatty acids, digestive enzyme activity, nutrient digestibility, and excreta gas emission. *Poultry Science*, 98, 4909-4918.
- [15] Özyurt, G. Gökdoğan, S. Şimşek, A. Yuvka, I. Ergüven, M. and Kuley Boga, E. 2016. Fatty acid composition and biogenic amines in acidified and fermented fish silage: a comparison study. *Archives of animal nutrition*, 70(1), 72-86.
- [16] Özyurt, G. Özkütük, A.S. Uçar, Y. Durmuş, M. and Özoğul, Y. 2018. Fatty acid composition and oxidative stability of oils recovered from acid silage and bacterial fermentation of fish (*Sea bass-Dicentrarchus labrax*) by products. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1255-1261
- [17] Fernández Herrero, A. Vittone, M. and Salomone, A. 2015. Biological silage of *Merluccius hubbsi*. Amino acid composition, degree of hydrolysis and peptides size. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*, 3(6), 57-62.
- [18] Iranian National Standard No. 924, 1993. Measurement of total protein in meat and its products. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [19] AOAC .2005. Official method of Analysis. 17th Edition, Association of Officiating Analytical Chemists, Washington DC.
- [20] Iranian National Standard No. 744, 2002. Meat and its products - Determination of total ash - Test method. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [21] Iranian National Standard No. 745, 1350. Meat and its products - Moisture measurement. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [22] Iranian National Standard No. 742, 2003. Meat and its products - Determination of total fat - Test method. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [23] Suvanich, V. Jahncke, M. L. Marshall, D. L. 2000. Changes in selected chemical quality characteristics of channel cat fish frame mince during chill and frozen storage. *Journal of Food Science*, 65, 24-29.
- Production of biosilage from rainbow trout waste. Final report. Caspian Sea Ecology Research Institute.
- [5] Tamaddoni, M. 1998. Preparation of silage from tuna waste. Final report. Hormozgan Fisheries Research Center. Fisheries Science Research Institute of Iran
- [6] Palkar, N. D. Koli, J. M. Gund, D. P. Patange, S. B. Shrangdher, S. T. and Sadawarte, R. K. 2018. Preparation of Co-Dried Fish Silage by Using Fish Market Waste and Its Comparative Study. *Indian Journal of Pure and Applied Biosciences*. 6 (2), 1567-1577.
- [7] Lassen, T.M. 1994. Lactic acid fermentation of fish offal and chicken by-product with different starter cultures. *Agricultural Science in Finland*. 4, 19-26.
- [8] Kamei, M. Sahu, B. Raman, S. Nanda, S. Choudhury, D. 2018. Use of Fish Silage Based Blended Protein Source for Replacement of Fish Meal in Thai-Pangas Diet. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(10), 2949-2961.
- [9] Palkar, N.D. Koli, M.J. Patange, S.B. Sharangdhar, T. S. and Sadavarte, R.K. 2017. Comparative Study of Fish Silage Prepared from Fish Market Waste by Using Different Techniques. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(12), 3844-3858.
- [10] Güllü, K. Acar, U. Tezel, R. Yozukmaz, A. 2014. Replacement of Fish Meal with Fish Processing by-Product Silage in Diets for the Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Pakistan Journal of Zoology*, 46(6), 697-1703.
- [11] Tanuja, S. Mohanty, P. K. Kumar, A. Moharana, A. and Nayak, S.K. 2014. Shelf Life Study of Acid Added Silage Produced from Fresh Water Fish Dressing Waste with and without the Addition of Antioxidants. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*, 5 (2), 91-98.
- [12] Goosen, N. J. de Wet, L. F. Görgens, J. F. Jacobs, K. and de Bruyn, A. 2014. Fish silage oil from rainbow trout processing waste as alternative to conventional fish oil in formulated diets for Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Animal Feed Science and Technology*, 188, 74-84.
- [13] Vázquez, J. A. Nogueira, M. Durán, A. Prieto, M.A. and Rodríguez-Amado, I. 2011. Preparation of marine silage of swordfish,

- Preparation of Primary Suspension and Decimal Dilutions, Iranian Institute of Standards and Industrial Research.
- [31] Ibrahim Sallam K. 2007. Antimicrobial and antioxidant effects of sodium acetate, sodium lactate and sodium citrate in refrigerated sliced salmon. *Food Control*, 18, 566-575.
- [32] Hernández, C. Osuna, L. and Hernandez, A.B. 2014. Effect of fishmeal replacement by poultry by-product meal on growth performance, proximate composition, digestive enzyme activity, haematological parameters and gene expression of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture Nutrition*, 42 (1), 1-12.
- [33] Standard No. 11166. 2007. Microbiology of food and animal feed - a comprehensive method for counting coliforms - colony counting method, Iranian Institute of Standards and Industrial Research.
- [34] Arfat, Y. A. S. Benjakul, K. Vongkamjan, P. Sumpavapol and S. Yarnpakdee. 2015. "Shelf-life extension of refrigerated sea bass slices wrapped with fish protein isolate/fish skin gelatin-ZnO nanocomposite film incorporated with basil leaf essential oil." *Journal of food science and technology*, 52 (10), 6182-6193.
- [35] Standard No. 3-10899. 2012. Microbiology of food and animal feed - Mold and yeast counting method, Iranian Institute of Standards and Industrial Research.
- [24] Zarei, A. Shivazad, M. Mirhadi, A. Gerami, A. Hafezie, M. 2003. Comparative study of protein digestibility of artemia meal and fish meal under condition of in vitro and in vivo. *Journal of Research and Construction in Livestock and Aquatic Affairs*, 18(3), 10-18.
- [25] Iranian National Standard No. 493, 2004. Sampling and testing methods of oils and fats. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [26] Egan, H. Krik, R. S. and Sawyer, R. 1997. Pearson's Chemical Analysis of Foods [Book]. Longman Group Ltd, - 9 (ed): pp. 609-634.
- [27] Iranian National Standard No. 10494, 2004. Vegetable oils and fats - Measurement of thiobarbituric acid number by direct method. Iran Institute of Standards and Industrial Research.
- [28] Namulema, A. Muyonga, J. H. and Kaaya, A. N. 1999. Quality deterioration in frozen Nile perch (*Lates niloticus*) stored at  $-13$  and  $-27^{\circ}\text{C}$ . *Food Research International*, 32, 151-156.
- [29] Jeon, Y. J. Kamil, J. Y. V. A. and Shahidi, F. 2002. Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and Atlantic cod. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 5167-5178.
- [30] Standard No. 1 - 8923, 2007. Microbiology of Food and Animal Feed - Preparation of Primary Suspension and Decimal Dilutions for Microbiological Tests Part One: General Regulations for



## Evaluation of quality and chemical spoilage indicators of biological silage produced from chicken waste and its comparison with meat, blood meal and kilka fish meal

Safari, R.<sup>1\*</sup>, Yaghoubzadeh, Z.<sup>1</sup>, Bankehsaz, Z.<sup>1</sup>, Reyhani Poul, S.<sup>2</sup>, Jafari, A.<sup>1</sup>, Abbaszadeh, M. M.<sup>3</sup>

1. Caspian Sea Ecology Research Institute, Fisheries Science Research Institute, Agricultural Education and Extension Research Organization, Sari, Iran.
2. Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. General Department of Fisheries of Mazandaran Province, Babolsar, Iran.

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

## Article History:

Received 2021/ 06/ 26  
Accepted 2021/ 11/ 16

## Keywords:

Chicken waste,  
Biosilage,  
Kilka fish meal,  
Meat.

DOI: 10.52547/fst.18.121.16

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.121.18.2

\*Corresponding Author E-Mail:  
safari1351@gmail.com

The aim of this study was to produce biological silage from chicken waste based on fermentation of autogenous bacteria and to evaluate the quality characteristics of the product. In order to produce this product, sampling was performed from selected slaughterhouses in Mazandaran province and biosilage was produced in the form of a one-ton fermenter using autogenous bacteria isolated from the region (fermentation). The final product (dried biosilage) was evaluated qualitatively using standard methods and compared with other sources including meat, blood meal and kilka fish meal (produced by batch method). The results showed that the amount of protein, fat and protein digestibility in the produced biosilage was 59.09%, 21.30% and 87.41%, respectively. The product produced was in a better condition than meat and kilka fish meal in terms of the mentioned indicators. The produced biosilage did not show a significant difference between blood meal in terms of calcium and phosphorus ( $p > 0.05$ ) and was at a lower level ( $p < 0.05$ ) than kilka fish meal and meat. The levels of TVN, PV and TBA in biosilage were measured as 46.56 mg/100g, 4.46 meq/kg and 2.21 mgMDA/kg, respectively. These indices are in a much more favorable condition in the produced product compared to meat and Kilka fish meal. It was further found that the microbial parameters (mold, yeast, coliform, fecal coliform, E.coli) in the samples of meat, blood meal and kilka fish meal were relatively higher compared to biosilage of chicken waste. According to the results of the present study, chicken waste has the ability to be converted into biosilage with desirable characteristics that can be used in agriculture and aquaculture industries.