



In vitro Evaluation of the Nutritional Value of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Combined with a Natural Tannin Source (*Punica granatum*)

Parvin Alimirzai Haghdadi¹ , Seyed Ehsan Ghiasi^{2✉} , Mohammad Hassan Fathi Nasri³ , Mohammad Mehdi Rabiee⁴

1. Ph.D Candidate in Animal Nutrition, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Birjand, Birjand. Iran.Email: Parvin.alimirzai_haghdadi2021@birjand.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Birjand, Birjand. Iran.Email: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Birjand, Birjand. Iran.Email: hfaathi@birjand.ac.ir
4. Department of Phytomedicine, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Birjand, Birjand. Iran.Email: mmrabie@birjand.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	This study aimed to evaluate the effects of combining pomegranate pomace as a natural source of tannins with black soldier fly larvae as an emerging protein source on rumen fermentation kinetics under in vitro conditions. The potential synergistic interaction between tannins and insect-derived protein in improving rumen fermentation efficiency was also examined. The research was conducted in two separate experiments using a completely randomized design. In the first experiment, different levels of the larvae–pomace mixture were assessed using the in vitro gas production technique, and parameters including pH, dry matter digestibility, protein digestibility, and ammonia nitrogen were measured at various incubation times. In the second experiment, the optimal level identified in the first experiment was selected as a protein supplement and compared with different replacement levels of soybean meal (0, 10, 20, and 30%). The results indicated that the combination of pomegranate pomace and black soldier fly larvae positively influenced rumen fermentation. In the first experiment, Treatment 6 improved dry matter digestibility (78/7) and reduced pH (6/51) and ammonia nitrogen (10/7). In the second experiment, Treatment 2 showed the highest gas production, favorable digestibility, and the lowest ammonia nitrogen concentration (6/40). Overall, this mixture can serve as a sustainable protein source and a suitable partial replacement for soybean meal in ruminant diets. Moderate levels of tannins enhanced fermentation and digestion, whereas higher levels exhibited inhibitory effects. These findings suggest that this innovative combination can improve protein utilization efficiency while contributing to the environmental sustainability of ruminant feeding systems.
Article history: Received: 27 November 2025 Received in revised form: 12 February 2026 Accepted: 17 February 2026 Published online: Autumn 2026	
Keywords: <i>Black soldier fly, Gas production, Pomegranate pomace, Soybean meal, Tannin.</i>	

Cite this article: Alimirzai Haghdadi, P., Ghiasi, S. E., Fathi Nasri, M. H. & Rabiee, M. M. (2026). In vitro Evaluation of the Nutritional Value of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Combined with a Natural Tannin Source (*Punica granatum*). *Iranian Journal of Animal Science*, 57 (3), 385-405. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2026.406546.654107>



Extended Abstract

Introduction

With the continuous growth of the global population and income levels, the demand for animal-derived protein is steadily increasing; however, the production of such protein is associated with considerable environmental challenges. These concerns have shifted scientific attention toward more sustainable protein sources, including edible insects. Many insect species are rich in protein, minerals, and vitamins, and therefore represent promising alternatives to conventional feed ingredients such as soybean meal and fishmeal, which are costly and are expected to become less accessible in the future. The black soldier fly larva (*Hermetia illucens*) is one of the most promising candidates in this regard due to its suitable chemical composition and its ability to be mass-produced on organic waste substrates. The chemical composition of BSFL typically includes 41.1–43.6% crude protein, 15–34.8% ether extract, 0.7% crude fiber, 14.6–28.4% ash, and approximately 5,278 kcal/kg gross energy on a dry-matter basis. In ruminant nutrition, the extent of protein degradation in the rumen is a major determinant of protein utilization efficiency and the amount of amino-acid-containing protein that reaches the small intestine. Despite its importance, available information on the ruminal degradability of insect-derived protein is limited. On the other hand, tannins—particularly those present in pomegranate peel—can bind to proteins and reduce their rapid degradation in the rumen, allowing a greater proportion of dietary protein to escape ruminal breakdown and become available for intestinal digestion. However, determining the optimal level of tannins is crucial, as excessive amounts can impair microbial activity and fiber digestion. Considering the valuable nutritional characteristics of BSFL and the potential of natural tannins in pomegranate peel, the present study was conducted to evaluate the effects of combining these two resources on rumen fermentation kinetics and fermentation characteristics under in vitro conditions, and to assess the potential synergistic interaction between tannins and insect-derived protein.

Materials and Methods

This study was conducted in two stages to evaluate the effects of combining pomegranate pomace and black soldier fly larvae (BSFL) on ruminal fermentation under in vitro conditions. For material preparation, hatched eggs of *Hermetia illucens* were obtained from the Iran Larvae Center (Mashhad). Larvae were reared under controlled environmental conditions, including 28°C temperature, 60–70% relative humidity, and a 12:12 h light–dark cycle. After a 12-hour fasting period to empty the digestive tract, the larvae were dried at 55°C and subsequently ground. Fresh pomegranate pomace was sourced from the Kosheh Sorkh Agro-industry (Qain) and shade-dried. Chemical composition, including dry matter, ash, crude protein, and ether extract, was analyzed according to AOAC (2005), and total tannins were determined using the Folin–Ciocalteu method. In the first experiment, BSFL powder and pomegranate pomace were mixed at six inclusion levels (0 to 12.5% pomace). In vitro gas production was assessed following the procedure of Blummel et al. (1997) using 120-mL anaerobic fermentation bottles. Each incubation consisted of 500 mg dry matter and 50 mL of a rumen fluid–buffer mixture (1:2). Gas pressure was recorded at 2 to 120 hours of incubation, while pH, dry matter digestibility, crude protein digestibility, and ammonia nitrogen were measured at specific time points. Rumen fluid was collected from two rumen-fistulated Holstein cows prior to morning feeding, filtered through four layers of cheesecloth, and transported immediately to the laboratory. Dry matter digestibility was determined according to Jahani et al. (2011), and ammonia nitrogen was quantified using the phenol–hypochlorite method. In the second experiment, the optimal mixture identified in Experiment 1 was used as a protein supplement and incorporated into the basal diet at 10%, 20%, and 30% replacement levels for soybean meal. Gas production data were fitted to the Schofield nonlinear model using the NLIN procedure of SAS (Version 9.4). Other parameters were analyzed using the General Linear Model (GLM), and treatment means were compared using Tukey–Kramer's test at a 5% significance level.

Results and discussion

The results showed that varying tannin levels significantly affected gas production kinetics. The highest potential gas production (V) was observed in treatment 2, while the lowest was in treatment 4. Increasing tannin levels reduced gas volume, and high tannin concentrations exerted an inhibitory effect on fermentation. The highest gas production rate (k) was observed in treatment 3, indicating a faster initial fermentation followed by a more stable process. The $g_{0.5}$ index mirrored potential gas production, suggesting that low tannin levels improved microbial access to substrates, while higher $T_{0.5}$ values indicated slower but more stable fermentation. Regarding dry matter disappearance, significant differences were observed between treatments during early incubation (4–24 h), but no differences were found at 48 h. Low tannin levels (pomegranate peel with black soldier fly larvae powder) improved dry matter and protein digestibility and stabilized rumen pH, whereas high tannin levels limited microbial activity and disrupted normal fermentation. Ammonia nitrogen concentration decreased in the early hours due to tannin–protein complex formation, which inhibited rapid protein degradation; however, over time, partial breakdown of these complexes allowed nitrogen release.

Protein digestibility was initially reduced by tannins but increased during mid-to-late incubation as microbial populations adapted and complexes dissociated, reaching levels close to the control. Overall, black soldier fly larvae can partially replace soybean meal in ruminant diets. Adding pomegranate peel at low to moderate levels positively influenced gas production, dry matter and protein digestibility, and pH stability, while high tannin levels had negative effects. The optimal combination of black soldier fly larvae and pomegranate peel enhanced protein utilization, reduced nitrogen losses, and improved the environmental sustainability of ruminant diets, making it a promising, innovative, and eco-friendly protein source.

Author Contributions

Data Availability Statement

The data supporting reported results are collected and used from published articles, to them we have referred in the manuscript.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Environmental Stresses Group in Animal Sciences, University of Birjand for financial support.

Ethical considerations

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

ارزیابی ارزش غذایی مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) همراه با منبع طبیعی تانن (*granatumPunica*) در شرایط آزمایشگاهی

پروین علیمیرزایی حقدادی^۱، سید احسان غیاثی^۲ | محمد حسن فتحی نسری^۳ | محمد مهدی ربیعه^۴

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: Parvin.alimirzaii_haghdadi2021@birjand.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: s.e.ghiasi@birjand.ac.ir
۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: hfaathi@birjand.ac.ir
۴. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران. رایانامه: mmrabie@birjand.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر ترکیب تفاله انار به عنوان منبع طبیعی تانن و لارو مگس سرباز سیاه به عنوان منبع پروتئینی نوظهور بر سینتیک تخمیر شکمبه در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. همچنین امکان هم افزایی میان تانن ها و پروتئین حشرات در بهبود کارایی تخمیر نشخوارکنندگان مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه در دو آزمایش مجزا و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. در آزمایش اول، سطوح مختلف ترکیب لارو مگس سرباز سیاه و تفاله انار با استفاده از روش تولید گاز درون شیشه ای ارزیابی شد و شاخص هایی مانند pH، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین، و نیتروژن آمونیاکی طی زمان های متفاوت انکوباسیون اندازه گیری گردید. در آزمایش دوم، سطح مطلوب از آزمایش اول به عنوان مکمل پروتئینی انتخاب و با سطوح مختلف جایگزینی کنجاله سویا (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد) مقایسه شد. نتایج نشان داد که ترکیب مذکور تأثیرات مثبتی بر تخمیر شکمبه ای دارد؛ به طوری که تیمار ۶ در آزمایش اول موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک (۷۸/۷) و کاهش pH (۶/۵۱) و غلظت نیتروژن آمونیاکی (۱۰/۷) شد. در آزمایش دوم نیز تیمار ۲ بهترین عملکرد را از نظر تولید گاز، قابلیت هضم و کاهش نیتروژن آمونیاکی (۶/۴۰) داشت. به طور کلی، این ترکیب می تواند به عنوان منبع پروتئینی پایدار و جایگزین مناسبی برای بخشی از کنجاله سویا در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گیرد. افزون بر این، استفاده از مقادیر متوسط تانن سبب بهبود تخمیر و افزایش هضم شد، در حالی که سطوح بالاتر اثرات مهاری نشان دادند. این نتایج نشان می دهد که ترکیب یادشده می تواند به بهبود بهره وری پروتئینی و ارتقای پایداری زیست محیطی جیره کمک کند.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۶	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۱/۲۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۲۸	
تاریخ انتشار: پاییز ۱۴۰۵	
کلیدواژه ها:	
تانن، تفاله انار، تولید گاز، کنجاله سویا، مگس سرباز سیاه.	

استناد: علیمیرزایی حقدادی، پروین؛ غیاثی، سید احسان؛ فتحی نسری، محمدحسن و ربیعه، محمد مهدی (۱۴۰۵). تأثیر فراوری توأم با پرتوهای الکترونی و کشت مایع قارچ اسپیرزیلوس اورایزا بر ترکیب شیمیایی، تولید گاز و تجزیه پذیری شکمبه ای کاه گندم. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۷ (۳)، ۳۸۵-۴۰۵. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2026.406546.654107>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2026.406546.654107>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

با افزایش درآمد و جمعیت جامعه جهانی، تقاضا برای پروتئین حیوانی افزایش می‌یابد (Sans & Combris, 2015). در حال حاضر تولید پروتئین حیوانی با عوارض زیست محیطی زیادی همراه است (Oonincx and Boer, 2012). از این رو، گرایش به بررسی منابع پایدارتر پروتئین حیوانی از جمله حشرات خوراکی در اولویت قرار دارد (Van Huis & Oonincx, 2017). اکثر حشرات منابع غنی از پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌ها هستند، اگرچه تنوع زیادی از لحاظ ترکیبات بین گونه‌ها و مراحل زندگی و شرایط مختلف تولید وجود دارد (Zhou et al., 2022)، هزینه‌های منابع خوراک سنتی مانند کنجاله سویا و پودر ماهی بسیار بالاست و در آینده دسترسی به آن‌ها محدود خواهد شد. بنابراین پرورش حشرات می‌تواند بخشی از راه حل باشد. مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) حشره‌ای متعلق به خانواده *Stratiomyidae* و احتمالاً بومی آمریکای جنوبی است که استفاده از لارو آن به عنوان جایگزینی برای کنجاله سویا و پودر ماهی در جیره غذایی طیور، خوک، گونه‌های ماهی و نشخوارکنندگان مورد بحث و بررسی قرار گرفته است (Makkar et al., 2014). مقدار ماده خشک لارو تازه این حشره نسبتاً بالا (بین ۳۵ تا ۵۰ درصد) بوده که این موضوع خشک کردن آن را نسبت به سایر فرآورده‌های تازه حاصل از حشرات ساده‌تر می‌نماید. ترکیب شیمیایی لارو مگس سرباز سیاه نشانگر وجود ۴۱/۱ تا ۴۳/۶ درصد پروتئین خام، ۱۵/۰ تا ۳۴/۸ درصد عصاره اتری، ۷/۰ درصد فیبر خام، ۱۴/۶ تا ۲۸/۴ درصد خاکستر و حدود ۵۲۷۸ کیلوکالری/کیلوگرم انرژی خام بر اساس ماده خشک بود (علیزاده قمصری و حسینی، ۱۴۰۰). در تحقیقات مختلف مقدار کلسیم لارو این حشره بسته به مرحله زندگی متغیر بوده و از ۰/۸۰-۰/۹۸ (Maurer et al, 2016) تا ۵-۸ درصد ماده خشک (Arango-Gutierrwz et al, 2004) گزارش شده است. هضم شکمبه‌ای تا حد زیادی کارایی استفاده از پروتئین را تعیین می‌کند و دانستن میزان تجزیه آن توسط میکروب‌های شکمبه برای تخمین پروتئینی که واقعاً به روده می‌رسد و پیش‌بینی نیازهای پروتئینی در تولید نشخوارکنندگان ضروری است (Orskov & McDonald, 1979 ; Hristov et al, 2019). بنابراین، ارزیابی میزان تجزیه پروتئین اولین گام برای بررسی پتانسیل خوراک‌های جدید برای نشخوارکنندگان است، اما اطلاعات موجود در مورد ارزیابی پروتئین حشرات در مقالات بسیار کمیاب و محدود به نظر می‌رسد (Toral et al, 2022) اثرات مفید تانن‌ها بر هضم خوراک‌های غنی از پروتئین به خوبی شناخته شده است. تانن‌ها می‌توانند با پروتئین‌ها پیوند برقرار کنند و باعث کاهش دسترسی میکروبیوتای شکمبه به چنین پروتئین‌هایی شوند، بنابراین تجزیه آن‌ها در شکمبه را نیز کاهش داده و به طور بالقوه میزان اسیدهای آمینه قابل جذب در سطح روده را افزایش می‌دهند، با این حال، سطح بهینه تانن برای جلوگیری از اثرات نامطلوب بر سنتز پروتئین میکروبی و قابلیت هضم دیواره‌های سلولی گیاهی در شکمبه باید با دقت در نظر گرفته شود. انار یکی از قدیمی‌ترین میوه‌هایی است که به طور وسیع در بسیاری از کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود؛ پوست انار دارای میزان قابل توجهی ترکیبات فنولی با وزن مولکولی بالا شامل فلاونوئیدها، پروآنتوسیانیدین، پلی‌ساکاریدهای پیچیده و آلاچی تانن‌ها هستند، تانن‌ها گروهی از مواد با قابلیت باند شدن به پروتئین‌ها در محیط آبی هستند. گروه‌های هیدروکسیلی فنلی تانن‌ها قادر به ایجاد پیوند هیدروژنی قوی با پروتئین‌ها هستند (رزم‌آذر و همکاران، ۱۳۹۵). این مطالعه با تلاش جهانی برای شناسایی جایگزین‌های پروتئینی سازگار با محیط زیست برای حفظ تولید نشخوارکنندگان همسو است. تمرکز اصلی این مطالعه بر استفاده از لارو مگس سرباز سیاه در جیره‌های نشخوارکنندگان است، و ارزیابی ترکیب آن با تفاله انار برای بررسی اثرات بالقوه یک منبع تانن طبیعی بر پروفایل تخمیر خوراک مبتنی بر حشرات است. ما فرض کردیم که ترکیب تفاله انار (به عنوان منبع طبیعی تانن‌ها) و مگس سرباز سیاه اثرات مطلوبی بر سینتیک و ویژگی‌های تخمیر میکروبی شکمبه در شرایط آزمایشگاهی دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات افزایشی تانن‌ها و پروتئین حاصل از حشرات در جیره‌های نشخوارکنندگان است.

مواد و روش‌ها

این بخش جزئیات روش‌های مورد استفاده در پژوهش را شرح می‌دهد. به طور خلاصه، این مطالعه شامل مراحل زیر است:

آماده سازی مواد

پرورش مگس سرباز سیاه: ابتدا تخم هج شده مگس سرباز سیاه از مرکز لارو ایران واقع در مشهد خریداری شده، سپس حشرات در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد با رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی: ۱۲ ساعت روشنایی پرورش یافتند. پس از اتمام دوره پرورش ۱۲ ساعت به حشرات گرسنگی داده شده تا محتویات گوارشی آن ها خارج شود پس از آن لاروها در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد خشک شدند (Sumbule et al, 2021).

تفاله انار (*Punica granatum*): تفاله انار تازه از شرکت "کشت و صنعت خوشه سرخ" شهرستان قائن، واقع در خراسان جنوبی خریداری و سایه خشک گردید.

مخلوط کردن مگس سرباز سیاه و پودر تفاله انار به نسبت های مختلف (۱۰۰:۰، ۲/۵:۹۵/۵، ۷/۵:۹۲/۵، ۱۰:۹۰، ۱۲/۵:۸۷/۵) با هم مخلوط شدند.

تعیین ترکیب شیمیایی انار و مگس سرباز سیاه

ترکیبات شیمیایی (ماده خشک، ماده آلی، خاکستر، پروتئین خام، عصاره ی و ..) با استفاده از روش های AOAC, 2005 تعیین شد. مقدار تانن تفاله انار و ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار روش فولین شیکالتو (Makkar et al, 1993) اندازه گیری شد.

تیمارهای آزمایشی به صورت ذیل می باشند:

آزمایش اول

- ۱- ۰ درصد تفاله انار + ۱۰۰ درصد حشره
- ۲- ۲/۵ درصد تفاله انار + ۹۷/۵ درصد حشره
- ۳- ۵ درصد تفاله انار + ۹۵ درصد حشره
- ۴- ۷/۵ درصد تفاله انار + ۹۲/۵ درصد حشره
- ۵- ۱۰ درصد تفاله انار + ۹۰ درصد حشره
- ۶- ۱۲/۵ درصد تفاله انار + ۸۷/۵ درصد حشره

آزمایش دوم

۱- جیره پایه

- ۲- جیره پایه + ۱۰ درصد جایگزینی ترکیب انتخابی از آزمایش اول با کنجاله سویا
- ۳- جیره پایه + ۲۰ درصد جایگزینی ترکیب انتخابی از آزمایش اول با کنجاله سویا
- ۴- جیره پایه + ۳۰ درصد جایگزینی ترکیب انتخابی از آزمایش اول با کنجاله سویا

آزمایش کشت ثابت مطابق با روش (Blummel et al, 1997) انجام شد. در این روش ۵۰۰ میلی گرم ماده خشک جیره و ۵۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (به نسبت ۱ به ۲) در شیشه های ۱۲۰ میلی لیتری بی هوازی، تحت جریان مداوم گاز دی اکسید کربن، قرار گرفت و فشار گاز تولیدی در زمان های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت بعد از آغاز انکوباسیون با استفاده از فشار سنج کمی (Lutron PM-9100) قرائت شد. برای انجام کشت ثابت مایع شکمبه از ۲ رأس گاو هلشتاین دارای فیستولای شکمبه ای قبل از خوراک صبح جمع آوری شد. حیوانات در سطح نگهداری با جیره حاوی ۵۰ درصد علوفه (یونجه و سیلاژ ذرت) و ۵۰ درصد کنسانتره تغذیه شدند و به آب آزادانه دسترسی داشتند. مایع شکمبه بلافاصله توسط چهار لایه پارچه متقال صاف گردید و به سرعت در فلاسک حاوی آب گرم (۳۸ درجه سانتی گراد) قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت توقف فعالیت میکروبی و اندازه گیری pH، قابلیت هضم پروتئین و غلظت نیتروژن آمونیاکی ویال ها در زمان های نمونه برداری به داخل آب سرد منتقل گردید. اندازه گیری pH از زمان های ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون توسط pH متر دیجیتالی (مدل LAB PH 727 METROHM) انجام شد. جهت اندازه گیری مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی طبق روش (Jahani et al, 2011) عمل شد (زمان

های ۴، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از انکوباسیون، بدین صورت که ابتدا نمونه‌ها با صافی ۴۲ میکرومتر فیلتر شده و مواد باقی مانده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در آن قرار گرفتند و طبق فرمول $IVDMD = [A - (B - C)] / A$ (محاسبه شد که در این معادله، A = وزن ماده خشک نمونه، B = وزن بعد از انکوباسیون و C = وزن ظرف خالی فاقد رطوبت بود) (واحدها برحسب گرم ماده خشک). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی از روش فنل-هیپوکلریت استفاده شد. ابتدا ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فنول و ۲ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت را با یکدیگر مخلوط و سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه به آن اضافه شد. در ادامه محلول به مدت ۵ دقیقه و در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد درون بن‌ماری جوش قرار داده شد. در نهایت پس از خنک شدن محلول فوق، در طول موج ۶۳۰ نانومتر دستگاه اسپکتوفتومتر میزان جذب یادداشت شد (Brodrick and Kang, 1980). برای اندازه‌گیری درصد ناپدید شدن پروتئین از فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{Disappeared CP} = (500 * \text{CP}) - (\text{remained DM} * 0.61)$$

CP = میزان پروتئین اولیه نمونه

remained DM = میزان ماده خشک باقی مانده

در مرحله بعد، سطح بهینه حاصل از ترکیب لارو مگس سرباز سیاه و تفاله انار به‌عنوان بهترین تیمار انتخاب شد و این سطح در آزمایش دوم، به‌منظور ارزیابی تأثیر جایگزینی آن با سطوح مختلف کنجاله سویا مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱. ترکیب شیمیایی تفاله انار و لارو مگس سرباز سیاه (بر اساس ماده خشک)

Table 1. Chemical composition of pomegranate pulp and black soldier fly larvae (on a dry matter basis)

TT (%)	EE (%)	ADF (%)	NDF (%)	Ash (%)	CP (%)	DM (%)	
14/0	4/7	17/7	37/4	۳/۴	2/89	93/21	تفاله انار
0	30.9	12/8	25/6	22/8	30.4	31/6	لارو مگس سرباز سیاه

DM: ماده خشک، CP: پروتئین خام، Ash: خاکستر، NDF: فیبر نامحلول در شوینده خنثی، ADF: فیبر نامحلول در شوینده اسیدی، TT: تانن کل

تجزیه و تحلیل آماری

از مدل نمایی شفولد $p = v(1 - \exp(-k(t)))$ برای برآزش داده‌های تولید گاز با به کارگیری رویه NLIN نرم افزار آماری SAS 9.4 به شیوه رگرسیون غیرخطی استفاده گردید. در این مدل p گاز تولیدی، v گاز مرتبط با سوبسترای دارای پتانسیل تخمیر و k نرخ تولید گاز در زمان t است. داده‌های به دست آمده از آزمایش تولید گاز اول در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح مکمل و شاهد با ۴ تیمار و ۵ تکرار و در آزمایش تولید گاز دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش سطح مکمل با ۶ تیمار و ۵ تکرار با استفاده از نرم SAS(9.4) رویه مدل خطی عمومی (GLM) تجزیه و تحلیل آماری شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی کرامر در سطح ۵٪ خطا استفاده شد.

جدول ۲. ترکیب اجزاء تشکیل دهنده و مواد مغذی جیره های آزمایشی اول (بر اساس ماده خشک)

Table 2. Composition of ingredients and nutrients of the first experimental diets (on a dry matter basis)

تیمارهای آزمایشی						اقلام
جیره ۶	جیره ۵	جیره ۴	جیره ۳	جیره ۲	جیره ۱	
87.5.12.5	90:10	92.5:7.5	95:5	97.5:2.5	100.0	پودر لارو مگس سرباز سیاه+ تفاله انار
						ترکیب شیمیایی محاسبه شده(%)
95.5	96.8	96.6	96.3	98.8	98.2	DM
87.9	89.1	90.1	91.7	89.4	89.6	OM
38.8	40.3	42.8	43.2	43.9	48.5	CP
28.03	28	28.3	25.8	29.2	25.6	NDF
14.5	14.0	14.1	13.2	15.3	12.8	ADF
29.7	30.1	33	38.5	31.6	31.8	EE
12.1	10.9	9.9	8.3	10.6	10.4	Ash
8.5	7.7	6.3	6.0	4.9	0	TT

DM: ماده خشک، CP: پروتئین خام، Ash: خاکستر، NDF: فیبرنامحلول در شوینده خنثی، ADF: فیبرنامحلول در شوینده اسیدی، EE: چربی خام، TT: تانن کل

جدول ۳. ترکیب اجزاء تشکیل دهنده و مواد مغذی جیره های آزمایشی دوم (بر اساس درصد ماده خشک)

Table 3. Composition of ingredients and nutrients of the second experimental diets (based on percentage of dry matter)

تیمارهای آزمایشی				اقلام
جیره ۴	جیره ۳	جیره ۲	جیره ۱	
30%	20%	10%	جیره پایه	
31.89	31.89	31.89	31.89	یونجه
19.13	19.13	19.13	19.13	سیلاز ذرت
6.38	6.38	6.38	6.38	کاه گندم
16.47	16.47	16.47	16.47	دانه جو
12.75	12.75	12.75	12.75	دانه ذرت
5.93	6.79	7.64	8.50	کنجاله سویا
3.40	3.40	3.40	3.40	کنجاله کلزا
2.58	1.72	0.86	0	مکمل پروتئینی
0.85	0.85	0.85	0.85	مکمل معدنی- ویتامینی
0.41	0.41	0.41	0.41	کربنات کلسیم
0.21	0.21	0.21	0.21	نمک
ترکیب شیمیایی محاسبه شده(%)				
79.02	79.78	80.55	81.34	DM
89.4	89.50	89.98	90.57	OM
23.42	26.01	23.70	22.70	CP
70.30	74.7	80.2	75.80	NDF
41.30	44.10	44.1	43.4	ADF
2.46	2.13	1.95	2.20	EE
10.60	10.50	10.02	9.43	Ash

DM: ماده خشک، CP: پروتئین خام، Ash: خاکستر، NDF: فیبرنامحلول در شوینده خنثی، ADF: فیبرنامحلول در شوینده

اسیدی، EE: چربی خام، TT: تانن کل، ویتامین A: IU۵۰۰/۰۰۰، ویتامین D3: IU۱۰۰/۰۰۰، ویتامین E: mg۱۰۰/۰۰۰،

مس: mg۳۰۰/۰۰۰، منگنز: mg۲۰۰/۰۰۰، کبالت: mg۱۰۰/۰۰۰، آنتی اکسیدان: mg۳۰۰/۰۰۰، کلسیم: mg۱۸۰/۰۰۰،

منیزیوم: mg۲۰/۰۰۰، آهن: mg۳/۰۰۰، روی: mg۳/۰۰۰، سلنیوم: mg۱/۰۰۰، سدیم: mg۶۰/۰۰۰.

نتایج و بحث

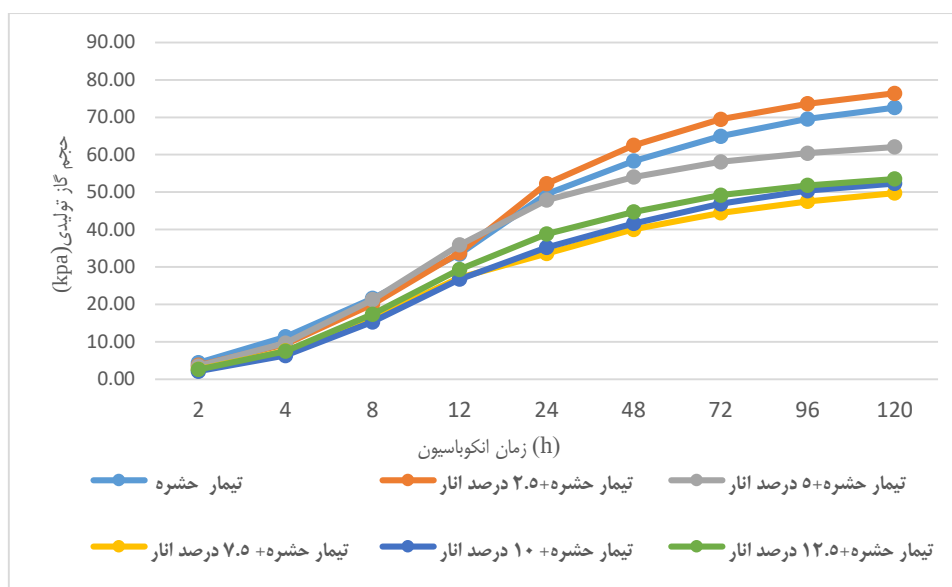
بر اساس نتایج جدول ۴، میانگین حجم نهایی گاز (V)، نرخ تولید گاز (K)، حجم گاز در نیمه زمان تخمیر (g_{0.5}) و زمان لازم برای رسیدن به نیمه حجم گاز (T_{0.5}) بین تیمارها تفاوت معنی داری نشان دادند (p<۰/۰۰۰۱). که نشان می دهد تغییر سطح تانن اثر قابل ملاحظه ای بر سینتیک تولید گاز داشت. بیشترین مقدار پتانسیل تولید گاز (V) در تیمار ۲ (۷۵/۸) مشاهده شد که نسبت به شاهد افزایش معنی داری داشت، در تیمار ۲ احتمالاً مقدار تانن در حدی نبوده که بر تخمیر و مقدار پتانسیل تولید گاز (V) اثرگذار باشد و کمترین مقدار در تیمار ۴ (۴۷/۹) مشاهده شد. با افزایش سطح تانن حجم گاز تولیدی کاهش یافت، اما در سطوح بالاتر تانن اثر مہاری بر تخمیر غالب شده و پتانسیل تولید گاز (V) افت کرده است. در آزمایش Loregian et al, 2023 بیان شد که افزودن تانن به کنجاله های پروتئینی می تواند میزان تجزیه پروتئینی شکمبه را کاهش دهد و در نتیجه تولید گاز کاهش یابد که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. بیشترین مقدار نرخ تولید گاز (K) در تیمار ۳ (۰/۰۵۶) و کمترین مقدار آن در تیمار ۲ (۰/۰۴۴) بود. این نتایج نشان می دهد که با وجود افزایش حجم کلی گاز در تیمار ۲ نرخ تخمیر کندتر بوده و نشان دهنده تخمیر پایدارتر و یکنواخت تر است (Getachew et al, 1998) و افزایش مقدار نرخ تولید گاز (K) در تیمار ۳ احتمالاً ناشی از سازگاری موقت میکروب ها با سطوح متوسط منجر به سرعت اولیه بالاتر در تخمیر شود. در مطالعه ی Molina-Alcaide & Yanez-Ruiz, 2008 گزارش کردند که تانن ها ممکن است در سطوح پایین اثر محرک خفیف بر رشد باکتری های خاص داشته باشند ولی در سطوح بالاتر (تیمار ۴ تا تیمار ۶) موجب مہار آنزیم های میکروبی می شوند. این پدیده می تواند نوسان مقدار نرخ تولید گاز (K) را توضیح دهد. در مطالعه ی که توسط sayd et al, 2022 انجام شده است، نشان می دهد که تانن ها می توانند پروتئولیز را کم کنند و بنابراین سرعت اولیه تولید گاز را نیز کاهش می دهد که با آزمایش حاضر مطابقت دارد. الگوی تغییرات g_{0.5} مشابه پتانسیل تولید گاز (V) بود، به گونه ای که تیمار ۲ بالاترین مقدار (۳۷/۹) و تیمار ۴ پایین ترین مقدار (۲۳/۹) را داشت. این شاخص بیانگر تخمیر در نیمه زمان کل است و افزایش آن در تیمار ۲ نشان می دهد که در حضور مقدار پایین تانن، میکروارگانیسم ها به سوبسترا دسترسی بهتری داشته اند (Bhatta et al, 2012). تیمارهایی مانند تیمار ۲ و ۵ زمان بالاتری برای رسیدن به نیمه حجم گاز داشتند (به ترتیب ۱۵/۷ و ۱۵/۱)، در حالی که تیمار ۳ و ۴ مقادیر پایین تری (۱۲/۳ و ۱۳/۲) داشتند. افزایش t_{0.5} معمولاً نشانه تخمیر کندتر ولی پایدارتر است در حالی که کاهش آن بیانگر تخمیر سریع اجزای محلول و پایان زود هنگام فعالیت میکروبی است.

جدول ۴. تأثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار بر فراسنجه های تولید گاز

Table 4. Effect of different inclusion levels of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp on gas production parameters.

T _{0.5}	g _{0.5}	K (ml/h)	V (ml)	تیمار
14.7 ^a	35.4 ^b	0.047 ^c	70.8 ^b	۱
15.7 ^a	37.9 ^a	0.044 ^d	75.8 ^a	۲
12.3 ^b	30.7 ^c	0.056 ^a	61.4 ^c	۳
13.2 ^b	23.9 ^d	0.052 ^b	47.9 ^d	۴
15.1 ^a	25.3 ^d	0.046 ^c	50.6 ^d	۵
13.3 ^b	25.9 ^d	0.052 ^b	51.8 ^d	۶
<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	سطح معنی داری
0.2	0.6	0.0006	1.20	خطای استاندارد
				میانگین

تیمار ۱: ۱۰۰:۰، تیمار ۲: ۲/۵:۹۷/۵، تیمار ۳: ۵/۹۵، تیمار ۴: ۷/۵:۹۲/۵، تیمار ۵: ۱۰:۹۰، تیمار ۶: ۱۲/۵:۸۷/۵



شکل ۱. تاثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار بر فراسنجه های تولید گاز

Figure 1. Effect of different inclusion levels of black soldier fly larva powder mixed with pomegranate pulp on gas production parameters.

ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی شاخصی است که می تواند با میزان هضم دستگاه گوارش نشخوارکنندگان مرتبط باشد. همانطور که در جدول ۵ نشان داده شده است، در بین تیمارهای آزمایشی در ساعات ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0.05$). اما در ساعت ۴۸ در بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی معنی داری وجود نداشت. در ساعت ۴ و ۸ درصد ماده خشک ناپدید شده در تیمار ۵ و ۶ در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری داشت ($p < 0.05$). طبق نتایج وقتی مقدار مگس سرباز سیاه در مکمل نسبت به شاهد کاهش یافت، قابلیت هضم ماده خشک در همه ساعات بعد از انکوباسیون به طور خطی افزایش یافت که پایین ترین سطح مگس سرباز سیاه (تفاله انار ۱۲/۵: مگس سرباز سیاه ۸۷/۵) بالاترین مقدار قابلیت هضم ماده خشک را نشان داد. که این نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت تانن های تفاله انار با پودر مگس سرباز سیاه بر قابلیت هضم ماده خشک در شرایط کشت آزمایشگاهی را نشان داد. در مطالعه ای که *Khonkhaeng et al, 2021* بر روی سطوح مختلف جیرجیرک به همراه گیاه فتونترینت (Phytonutrient) در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند، بیان کردند که قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای که حاوی سطوح پایین جیرجیرک هستند، افزایش داشت که با آزمایش حاضر مطابقت دارد.

جدول ۵. تاثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (درصد) در زمان های مختلف انکوباسیون

Table 5. Effect of different inclusion levels of black soldier fly larva powder mixed with pomegranate pulp on apparent dry matter digestibility (%) at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
74.5	67.7 ^b	68.3 ^{bc}	74.5 ^a	76.3 ^{ab}	۱
76.5	74.5 ^a	70.3 ^b	72.4 ^b	73.1 ^{bc}	۲
76.4	74.5 ^a	66 ^c	71.6 ^b	72.5 ^c	۳
68.2	75.5 ^a	69.3 ^{bc}	72.7 ^{ab}	75.8 ^{abc}	۴
78.3	74.6 ^a	69.7 ^{bc}	74.4 ^b	76.7 ^a	۵
75	77.4 ^a	75.9 ^a	73.2 ^{ab}	78.7 ^a	۶
0.5	0.001	0.01	0.04	0.05	سطح معنی داری
3.44	0.94	1.31	0.62	1.16	خطای استاندارد میانگین

تیمار ۱: ۱۰۰:۰، تیمار ۲: ۹۷/۵:۲/۵، تیمار ۳: ۹۵:۵، تیمار ۴: ۷/۵:۹۲/۵، تیمار ۵: ۹۰:۱۰، تیمار ۶: ۸۷/۵:۱۲/۵

نتایج این جدول ۶ نشان می‌دهد که سطوح پایین تا متوسط تانن (تیمار ۲ تا ۴) تاثیر کمی بر pH داشته و از افت شدید pH جلوگیری کردند، در حالی که سطوح بالای تانن (تیمار ۶) باعث اختلال در تخمیر طبیعی و افت pH در مراحل پایانی شد. به طور کلی این تغییرات بیانگر آن است که تانن در سطوح بهینه می‌تواند پایداری محیط شکمبه را حفظ کند، اما در غلظت‌های بالا اثر منفی بر تعادل تخمیر و محیط می‌گذارد. pH شکمبه در ساعات ۸، ۲۴ و ۴۸ در بین تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). pH شکمبه در تمامی تیمارها بعد از ۴ و ۸ ساعت انکوباسیون ثابت باقی می‌ماند. در مطالعه‌ی Besharati et al, 2022 بیان شد، که تانن‌ها می‌توانند تولید اسیدهای چرب فرار را کاهش دهند و در نتیجه از افت شدید pH جلوگیری کند و افزودن مقدار کنترل شده تانن می‌تواند به ثبات محیط شکمبه کمک کند، هر چند سطوح بالاتر ممکن است با کاهش فعالیت تخمیری همراه شود. در مطالعه‌ی Hassanat and Benchaar, 2013 افزودن تانن از منبع اقلایا به جیره گاو شیری موجب افزایش pH شکمبه در ۶ ساعت اول پس از تغذیه شد، که با آزمایش حاضر در ساعت ۴ همخوانی دارد.

جدول ۶. تأثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه یا تفاله انار بر pH در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 6. Effect of different inclusion levels of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp on pH at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
6.60 ^{ab}	6.60 ^a	6.53	6.62 ^a	6.61	۱
6.63 ^a	6.62 ^a	6.55	6.54 ^b	6.66	۲
6.62 ^{ab}	6.63 ^a	6.53	6.53 ^b	6.62	۳
6.61 ^{ab}	6.66 ^a	6.55	6.56 ^b	6.62	۴
6.58 ^b	6.64 ^a	6.57	6.52 ^b	6.63	۵
6.52 ^c	6.52 ^b	6.51	6.58 ^{ab}	6.66	۶
0.0003	0.02	0.6	0.05	0.4	سطح معنی داری
0.01	0.02	0.02	0.02	0.01	خطای استاندارد
					میانگین

تیمار ۱: ۱۰۰:۰، تیمار ۲: ۹۷/۵:۲/۵، تیمار ۳: ۹۵/۵:۴/۵، تیمار ۴: ۹۲/۵:۷/۵، تیمار ۵: ۹۰:۱۰، تیمار ۶: ۸۷/۵:۱۲/۵

جدول ۷ تغییرات نیتروژن آمونیاکی را در محیط تخمیر شکمبه‌ای در طی ۴۸ ساعت نشان می‌دهد. اثر تیمارهای آزمایشی بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در محیط تخمیر شکمبه‌ای تنها در ساعت ۱۲ معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در ساعت ۱۲، بیشترین غلظت نیتروژن آمونیاکی در تیمار ۳ (۲۲/۹) و کمترین مقدار در تیمار ۶ (۱۰/۷) مشاهده شد. تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در ساعت ۱۲ احتمالاً ناشی از تشکیل کمپلکس پایدار تانن-پروتئین بوده است که از تجزیه سریع پروتئین توسط باکتری‌های شکمبه جلوگیری کرده و در نتیجه غلظت نیتروژن آمونیاکی کاهش یافته است (Makkar, 2003; Frutos et al, 2004). در ابتدای تخمیر، افزایش اولیه نیتروژن آمونیاکی (به ویژه در تیمارهای ۲، ۳، ۴) نشان دهنده تجزیه سریع بخش پروتئین محلول و نیتروژن غیر پروتئینی موجود در خوراک است. در این مرحله هنوز اثر تانن‌ها به طور کامل فعال نشده و پیوند تانن-پروتئین به تعادل نرسیده است، بنابراین تجزیه پروتئین و آزادسازی آمونیاک در تمام تیمارها نسبتاً بالا بوده است (Patra and sexena, 2011; Getachew et al, 2004). در ساعت ۸ میکروارگانیزم‌های شکمبه به بالاترین فعالیت خود رسیده‌اند و نرخ هیدرولیز پروتئین هنوز بالاست، در نتیجه غلظت نیتروژن آمونیاکی افزایش نسبی دارد. در تیمارهای ۱ و ۳ میکروب‌ها به راحتی به پروتئین دسترسی دارند و آمونیاک بیشتری تولید می‌کنند. در مقابل در تیمارهای ۲، ۴، ۵ و ۶ به دلیل مهار فعالیت میکروبی و محدود شدن دسترسی به پروتئین، افزایش نیتروژن آمونیاکی کمتر است. در مطالعه‌ی Makkar, 2003 و Frutos et al, 2004 گزارش کردند که اثر مهاری تانن‌ها معمولاً پس از چند ساعت از شروع تخمیر ظاهر می‌شود. در ساعت ۲۴ مقدار نیتروژن آمونیاکی مجدداً اندکی افزایش یافت، به ویژه در تیمارهای ۴ و ۵، که این افزایش را می‌توان ناشی از تجزیه تدریجی کمپلکس‌های تانن-پروتئین در محیط شکمبه‌ای دانست (Mueller-harvey, 2006). در پایان تخمیر (ساعت ۴۸) غلظت نیتروژن آمونیاکی در همه تیمارها به سطح پایینی رسیده

است. این کاهش طبیعی نتیجه کاهش دسترسی به سوبسترا و مصرف آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌ها برای سنتز پروتئین میکروبی است (Wallace et al, 1997). تیمار ۶ در کل زمان‌ها پایین‌ترین سطح نیتروژن آمونیاکی را حفظ کرد، که نشان می‌دهد تانن‌ها در سطح (۸۷/۵: ۱۲/۵) توانسته است آزاد سازی نیتروژن را مهار کرده و در طول زمان پایداری این اثر را حفظ کند.

جدول ۷. تأثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار بر نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم بر دسی لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 7. Effect of different levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp on ammonia nitrogen (mg/dL) at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
18.1	16.0	22.1 ^a	19.9	17.9	۱
13.8	16.3	16.6 ^{ab}	19.0	20.7	۲
16.7	19.2	22.9 ^a	20.5	25.4	۳
19.8	22.7	21.4 ^a	22.8	23.7	۴
17.6	23.2	19.8 ^a	23.9	19.5	۵
11.3	11.3	10.7 ^b	19.3	17.5	۶
0.5	0.5	0.04	0.9	0.4	سطح معنی داری
4.81	4.81	2.56	3.36	3.09	خطای استاندارد میانگین

تیمار ۱: ۱۰۰:۰، تیمار ۲: ۹۷/۵:۲/۵، تیمار ۳: ۹۵:۵، تیمار ۴: ۹۲/۵:۷/۵، تیمار ۵: ۹۰:۱۰، تیمار ۶: ۸۷/۵:۱۲/۵

در جدول ۸ در ساعت ۴ و ۲۴ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.05$). در ساعت ۴ تیمارهای ۱ و ۵ (به ترتیب ۸۳/۳ و ۸۳/۲) بیشترین مقدار قابلیت هضم پروتئین را داشتند، در حالی که تیمار ۶ کمترین مقدار (۷۰/۹) را داشت. این نشان می‌دهد که در مراحل اولیه تخمیر تانن‌ها با ایجاد پیوندهای کمپلکسی بین پروتئین و گروه‌های فنولی باعث کاهش دسترسی میکروبی به پروتئین می‌شوند و در نتیجه قابلیت هضم کاهش می‌یابد. در مطالعه‌ی Barman and Rai, 2008 نیز گزارش کردند که قابلیت هضم پروتئین با افزایش سطح تانن کاهش می‌یابد. که با آزمایش ما مطابقت دارد. در ساعت ۸ و ۱۲ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، که می‌تواند ناشی از تطبیق تدریجی جمعیت میکروبی شکمبه به حضور تانن‌ها باشد. در این مرحله بخشی از پیوندهای تانن-پروتئین در اثر تغییر pH و فعالیت آنزیمی شکسته شده و امکان تجزیه مجدد فراهم می‌شود، که در مطالعه‌ی Bhatta et al, 2012 گزارش شد که با گذشت زمان انکوباسیون اثر مهارتی تانن کاهش می‌یابد و میکروب‌ها قادر به استفاده از نیتروژن هستند، که با پژوهش ما مطابقت دارد. در ساعت ۲۴ بین تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود داشت و تیمارهای حاوی تانن نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم پروتئین نشان دادند. در آزمایش گنجی و همکاران، ۱۳۹۶ بیان شد علی‌رغم حضور تانن در میوه بنه و تمایل آن‌ها برای ایجاد واکنش با پروتئین‌ها، میزان ناپدید شدن پروتئین در شکمبه افزایش یافت که این نشان می‌دهد همه تانن‌ها تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه را کاهش نمی‌دهند یا احتمالاً علت قابلیت هضم پروتئین بالا بودن میزان پروتئین محلول پودر حشره باشد. در ساعت ۴۸ پس از انکوباسیون، اختلاف معنی‌داری میان تیمارهای حاوی سطوح مختلف تانن مشاهده نشد، به‌طوری‌که مقادیر قابلیت هضم پروتئین در تمام تیمارها در محدوده‌ای نزدیک به یکدیگر قرار گرفتند. این موضوع نشان می‌دهد که اثر بازدارنده‌ی اولیه‌ی تانن‌ها بر تجزیه پروتئین در ساعات پایانی تخمیر کاهش یافته است. به نظر می‌رسد در طی زمان، بخشی از پیوندهای غیر کووالانسی میان تانن و پروتئین که در ساعات ابتدایی موجب محدود شدن دسترسی آنزیم‌های میکروبی به پروتئین می‌شدند، به تدریج شکسته شده‌اند و در نتیجه پروتئین‌های عبوری دوباره در دسترس میکروب‌های شکمبه‌ای قرار گرفته‌اند. در مطالعه‌ی Frutos et al, 2004 نیز بیان می‌کنند که در انکوباسیون‌های طولانی مدت، اثر مهارکنندگی تانن بر تخمیر نیتروژن و تجزیه پروتئین کاهش یافته و در نهایت مقادیر هضم به سطح شاهد نزدیک می‌شود. همچنین Bhatta et al, 2012 گزارش کردند که در ساعات پایانی تخمیر، جمعیت میکروبی به حضور ترکیبات فنولی سازگار می‌شود و گونه‌هایی مانند *Butyrivibrio fibrisolvens* قادر به استفاده از تانن به عنوان منبع کربن می‌شوند. از سوی دیگر، کاهش مواد

تخمیرپذیر در مرحله‌ی پایانی باعث محدود شدن رشد میکروارگانیسم‌ها و یکنواخت شدن میزان تجزیه در همه‌ی تیمارها می‌گردد (Getachew *et al*, 2004). نتایج آزمایش‌های مختلف اثرات متفاوتی از تانن را روی هضم پروتئین نشان داده‌اند که آثار مثبت و منفی بسته به غلظت و ماهیت تانن و ترکیبات موجود در خوراک متغیر است (Besharati *et al*, 2022).

جدول ۸. تأثیر سطوح مختلف ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار بر قابلیت هضم پروتئین (درصد) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 8. Effect of different inclusion levels of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp on protein digestibility (%) at various incubation times.

انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
83.3	64.5 ^c	68	77.9	83.2 ^a	۱
78.5	76.7 ^a	62.9	78.4	82.3 ^{ab}	۲
81.9	73.2 ^{ab}	63.8	76.3	76.2 ^{bc}	۳
73.3	78.3 ^a	62.3	75.5	77.2 ^{abc}	۴
78.1	67.1 ^{bc}	66.6	75.7	83.3 ^a	۵
79.5	76 ^a	71.3	78.5	70.9 ^c	۶
0.7	0.05	0.1	0.9	0.009	سطح معنی داری
3.90	2.88	3.78	3.04	2.17	خطای استاندارد میانگین

تیمار ۱: ۱۰۰:۰، تیمار ۲: ۹۷/۵:۲/۵، تیمار ۳: ۹۵:۵، تیمار ۴: ۷/۵:۹۲/۵، تیمار ۵: ۹۰:۱۰، تیمار ۶: ۸۷/۵:۱۲/۵

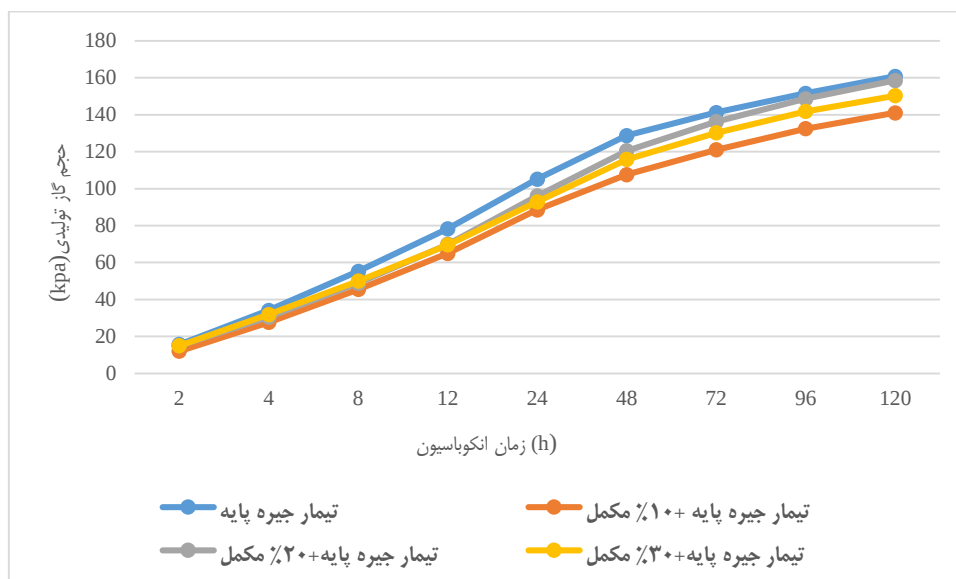
فراسنجه‌های تخمیری مدل شغولد بر اساس داده‌های بدست آمده از آزمایش تولید گاز و فراسنجه‌های محاسباتی مرتبط در زمان $t_{0.5}$ (زمان رسیدن به نصف پتانسیل تخمیر یا تولید گاز) در جدول ۹ گزارش شده است. براساس این نتایج تفاوت الگوی تخمیر از دیدگاه نرخ و پتانسیل تولید بین تیمارها معنی‌دار بود ($p < 0.05$). نتایج نشان می‌دهد که کل گاز تولیدی (میلی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون بین تیمارها تفاوت معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). تیمار ۳ حاوی بیشترین حجم گاز تولیدی در ۱۲۰ ساعت انکوباسیون، بیشترین پتانسیل تولید گاز (V) و کمترین نرخ تولید گاز (K) بود. طبق انتظار تیمار ۲۰٪ جایگزینی مکمل با کنجاله سویا (تیمار ۳) حاوی بیشترین گاز تولیدی در زمان $t_{0.5}$ (نیمه عمر انکوباسیون یا زمانی که نرخ تجزیه میکروارگانیسم‌ها در حداقل مقدار خود می‌باشد) و $g_{0.5}$ را نیز به خود اختصاص داد. لذا به نظر می‌رسد کاهش مقدار گاز تولیدی در تیمار ۴، ۳، ۲ در مقایسه با شاهد به توانایی باند شدن تانن‌ها با مواد مغذی و مهار فعالیت میکروبی شکمبه بر می‌گردد (کولیوند و همکاران، ۱۴۰۱). مطالعه حاضر نشان داد که تیمار ۳ بیشترین حجم گاز تولیدی و کمترین زمان $T_{0.5}$ را داشت که بیانگر تخمیر کندتر و کامل‌تر مواد خوراکی بود. در مقالات نیز چنین رابطه‌ای بین حجم گاز تولیدی، قابلیت تخمیر و هضم مواد آلی مشاهده شده است. به عنوان مثال، در مطالعه‌ی [Paula et al, 2017](#) گزارش کردند که کنجاله سویا (SBM) در مقایسه با کنجاله کانولا (CM) با RUP (۵۰٪) حجم گاز بیشتری تولید کرده است. همچنین در مطالعه دیگری که Yao *et al*, 2020 بر روی جایگزین کردن کنجاله سویا (SBM) با تفاله‌های انگور زرد تخمیر شده (YWL) انجام دادند، مشاهده شد که در نسبت بهینه، حجم گاز تولیدی و نرخ تولید گاز بهبود یافت.

جدول ۹. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر فراسنجه‌های تولید گاز

Table 9. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva meal and pomegranate pulp for soybean meal on gas production parameters.

T _{0.5}	g _{0.5}	K(ml/h)	V(ml)	تیمار
12.9 ^c	72.3 ^a	0.053 ^a	144.7 ^a	۱
14.2 ^b	69.0 ^b	0.049 ^b	138.0 ^b	۲
15.1 ^a	72.8 ^a	0.047 ^c	145.7 ^a	۳
13.5 ^{cb}	70.5 ^{ab}	0.051 ^a	141.1 ^{ab}	۴
<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	سطح معنی داری
0.23	0.077	0.0005	1.55	خطای استاندارد میانگین

تیمار ۱: جیره پایه، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰٪ جایگزینی، تیمار ۳: جیره پایه + ۲۰٪ جایگزینی، تیمار ۴: جیره پایه + ۳۰٪ جایگزینی



شکل ۲. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر فراسنجه‌های تولید گاز

Figure 2. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp for soybean meal on gas production parameters.

بر اساس نتایج جدول ۱۰ اثر سطوح مختلف جایگزینی مکمل با کنجاله سویا بر روی pH محیط کشت معنی‌دار نبود. طبق جدول ۵ بالاترین مقدار pH مایع شکمبه در زمان‌های ۸ و ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون مربوط به تیمار ۲ و کم‌ترین مقدار pH مربوط به تیمار ۲ در ساعت ۴۸ بود. در مطالعه حاضر، مقادیر pH بین حدود ۶/۴ تا ۶/۷ بودند که در محدوده بهینه برای فعالیت باکتری‌های شکمبه‌ای (۶/۸-۶/۰) قرار دارند. کاهش اندک pH در تیمارهای ۲ و ۳ دیده شد که احتمالاً ناشی از افزایش تولید اسیدهای چرب فرار (VFA) است. حفظ pH در این محدوده نشان می‌دهد که تخمیر به صورت بی‌خطر و مطلوب صورت گرفته و به احتمال زیاد فیبر و پروتئین به صورت بهینه توسط میکروارگانیسم‌ها مصرف شده است.

جدول ۱۰. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر pH در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 10. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp for soybean meal on pH at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
6.45	6.42	6.67	6.42	6.52	۱
6.40	6.45	6.87	6.70	6.47	۲
6.42	6.45	6.57	6.45	6.47	۳
6.45	6.47	6.50	6.45	6.50	۴
0.4	0.8	0.8	0.2	0.6	سطح معنی داری
0.02	0.04	0.21	0.12	0.07	خطای استاندارد میانگین

تیمار ۱: جیره پایه، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰٪ جایگزینی، تیمار ۳: جیره پایه + ۲۰٪ جایگزینی، تیمار ۴: جیره پایه + ۳۰٪ جایگزینی

جدول ۱۱ نشان می‌دهد قابلیت هضم ماده خشک در تیمارهای مورد مطالعه در طول زمان انکوباسیون تغییرات مشخصی را نشان داد. در ابتدای فرآیند هضم (ساعت ۴)، تیمار ۲ بیشترین میزان قابلیت هضم را به خود اختصاص داد (۴۶/۳٪)، در حالی که تیمارهای ۳ و ۴ مقادیر پایین‌تری را نشان دادند. این افزایش اولیه در تیمار ۲ احتمالاً ناشی از دسترسی بهتر میکروب‌های شکمبه‌ای

به اجزای قابل تخمیر جیره و به‌ویژه پروتئین بوده است، در حالی که اثر مهاری تانن در این مرحله هنوز فرصت کافی برای تشکیل کمپلکس‌های پایدار با پروتئین و سایر اجزای خوراک نداشته است. در ساعت ۸ نیز تیمار ۲ همچنان بیشترین قابلیت هضم ماده خشک (۴۸/۸٪) را نشان داد. این روند می‌تواند ناشی از تعادل بین اثر تحریک‌کننده جایگزینی بخشی از کنجاله سویا با مکمل و در عین حال شروع تدریجی اثر محدودکننده تانن بر فعالیت آنزیمی و میکروبی شکمبه باشد. با گذشت زمان و در ساعت ۱۲، بیشترین قابلیت هضم ماده خشک در تیمار شاهد مشاهده شد (۶۵/۹٪)، در حالی که تیمارهای ۳ و ۴ کاهش قابل توجهی را نشان دادند. این کاهش احتمالاً به دلیل تشکیل کمپلکس‌های تانن-پروتئین و همچنین برهم‌کنش تانن با کربوهیدرات‌های ساختمانی بوده که منجر به محدود شدن دسترسی میکروب‌های شکمبه‌ای به مواد مغذی قابل تخمیر و مهار نسبی فعالیت آنزیم‌های شکمبه‌ای شده است. در ساعت ۲۴، اختلاف بین تیمارها آشکارتر شد؛ به‌طوری‌که تیمارهای ۱ و ۲ با مقادیر تقریباً مشابه، بالاترین قابلیت هضم را داشتند، در حالی که تیمارهای ۳ و ۴ مقادیر پایین‌تری را نشان دادند. این موضوع بیانگر آن است که با افزایش مدت زمان تماس خوراک با تانن، میزان تشکیل کمپلکس‌های پایدار افزایش یافته و در نتیجه دسترسی میکروارگانیسم‌های شکمبه‌ای به مواد مغذی محدودتر می‌شود. در ساعت ۴۸، تیمار شاهد و تیمار ۲ به بیشترین میزان قابلیت هضم خود رسیدند (به‌ترتیب ۷۱/۳ و ۷۲/۷٪)، در حالی که تیمار ۳ همچنان کمترین مقدار هضم (۶۰/۵٪) را نشان داد. تیمار ۴ نسبت به ساعت ۲۴ افزایش نسبی در قابلیت هضم داشت که می‌تواند ناشی از نوعی سازگاری نسبی جمعیت میکروبی شکمبه با حضور تانن و تعدیل نسبی اثر مهاری آن باشد. به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش سطح جایگزینی جیره با مکمل حاوی تانن به‌ویژه در سطوح بالاتر از ۱۰ درصد، موجب کاهش تدریجی قابلیت هضم ماده خشک می‌شود. این اثر به‌طور واضح در تیمارهای ۳ و ۴ مشاهده شد و نشان‌دهنده محدود شدن دسترسی میکروب‌های شکمبه‌ای به پروتئین و فیبر قابل تخمیر در اثر تشکیل کمپلکس‌های تانن-پروتئین و تانن-کربوهیدرات است. نتایج حاضر با گزارش Loregian et al, 2023 همخوانی دارد که نشان دادند افزودن تانن به منابع پروتئینی سبب تشکیل کمپلکس‌های پایدار با پروتئین شده و تجزیه آن را در شکمبه کاهش می‌دهد. اگرچه این پدیده می‌تواند موجب افزایش جریان پروتئین عبوری به روده شود، اما در صورت افزایش بیش از حد تانن، کاهش قابلیت هضم ماده خشک و اجزای دیواره سلولی اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. همچنین گزارش متاآنالیز AlRharad et al, 2025 نشان دادند که افزایش سطح تانن جیره، به‌ویژه در مقادیر بالاتر از حد بهینه، موجب کاهش معنی‌دار قابلیت هضم ماده خشک در نشخوارکنندگان می‌شود که با نتایج تیمارهای ۳ و ۴ این مطالعه مطابقت دارد. از نظر تغذیه‌ای، گزارش شده است که سطح ایمن و مفید تانن در جیره نشخوارکنندگان حدود ۲ تا ۴ درصد ماده خشک جیره (۲۰ تا ۴۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک) است و مقادیر بالاتر از ۴ تا ۵ درصد ماده خشک معمولاً با کاهش هضم و مصرف خوراک همراه می‌شود (Min et al, 2003; Mueller-Harvey, 2021). بنابراین، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که جایگزینی ۱۰٪ سویا با مکمل، احتمالاً سطح تانن را در محدوده قابل تحمل نگه داشته است، در حالی که جایگزینی‌های ۲۰ و ۳۰٪ سبب افزایش دریافت تانن فراتر از محدوده بهینه شده و اثر مهاری بر هضم ماده خشک اعمال کرده‌اند. در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که جایگزینی ۱۰٪ کنجاله سویا با مکمل بدون ایجاد اثر منفی قابل توجه بر قابلیت هضم ماده خشک قابل توصیه است، در حالی که سطوح بالاتر جایگزینی (۲۰ و ۳۰٪) به دلیل افزایش دریافت تانن و محدود شدن فعالیت میکروبی شکمبه‌ای، موجب کاهش کارایی هضم می‌شوند.

جدول ۱۱. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر قابلیت هضم ظاهری ماده خشک (درصد) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 11. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp for soybean meal on apparent dry matter digestibility (%) at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
71.3	68.0	65.9	43.0	42.9	۱
72.7	67.6	63.8	48.8	46.3	۲
60.5	58.0	57.1	45.8	44.7	۳
68.1	59.3	52.2	47.9	42.7	۴
0.3	0.08	0.3	0.8	0.8	سطح معنی داری
4.7	3.1	5.7	4.5	2.9	خطای استاندارد
					میانگین

تیمار ۱: جیره پایه، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰٪ جایگزینی، تیمار ۳: جیره پایه + ۲۰٪ جایگزینی، تیمار ۴: جیره پایه + ۳۰٪ جایگزینی

جدول ۱۲ در ساعت ۴ مقدار نیتروژن آمونیاکی در شاهد (۱۷/۰۹) بیشترین و در تیمار ۲ (۱۰/۹) کمترین مقدار را نشان داده است. این کاهش نشان دهنده تأثیر اولیه تانن در مهار تجزیه پروتئین است. زیرا تانن با پروتئین‌های خوراک و آنزیم‌های میکروبی ترکیب شده و مانع آزاد سازی آمونیاک می‌شود (Makkar, 2003; Min et al, 2003). در ساعت ۸ و ۱۲ اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود. که نشان دهنده این است که میکروب‌های شکمبه پس از چند ساعت انکوباسیون به حضور تانن سازگار شده و یا بخشی از پیوندهای تانن-پروتئین شکسته شده‌اند و دوباره نیتروژن آمونیاکی آزاد شده است (Getachew et al, 1998; Patra and saxena, 2011). در ساعت ۲۴ در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ درصد مجدداً مقادیر پایین‌تری از نیتروژن آمونیاکی (۱۴/۴، ۱۴/۶) نشان داده‌اند، در حالی که شاهد و تیمار ۴ مقداری بالاتری داشتند (۱۷/۵، ۱۷/۲). علت آن تفاوت پایداری پیوندهای تانن-پروتئین در سطوح مختلف می‌باشد. در تیمار ۴ احتمال دارد که تانن مازاد آنزیم‌ها را مهار کند، اما برخی از کمپلکس‌های تجزیه شوند و دوباره آمونیاک آزاد گردد. اما در تیمارهای ۲ و ۳ تانن هنوز توانسته است بخشی از پروتئین‌ها را از تجزیه محافظت کند و باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی شود که با مطالعه‌ی Frtos et al, 2004 مطابقت دارد. در ساعت ۴۸ اختلاف معنی‌داری گزارش نشده است. این نشان دهنده این است که کمپلکس تانن-پروتئین در دوره‌های طولانی‌تر تقریباً شکسته می‌شوند و نیتروژن آمونیاکی در شکمبه آزاد می‌شود.

جدول ۱۲. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 12. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp for soybean meal on ammonia nitrogen (mg/dL) at various incubation times.

زمان انکوباسیون (ساعت)					تیمار
۴۸	۲۴	۱۲	۸	۴	
17.3	17.2	17.1	17.0	17.0	۱
17.5	14.4	16.9	15.1	10.9	۲
17.5	14.6	15.9	16.7	13.8	۳
16.4	17.5	16.6	13.4	16.5	۴
0.5	0.7	0.4	0.4	0.1	سطح معنی داری
0.54	2.10	0.48	1.50	1.47	خطای استاندارد
					میانگین

تیمار ۱: جیره پایه، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰٪ جایگزینی، تیمار ۳: جیره پایه + ۲۰٪ جایگزینی، تیمار ۴: جیره پایه + ۳۰٪ جایگزینی

نتایج جدول ۱۳ نشان داد که قابلیت هضم پروتئین در تمامی تیمارها با افزایش زمان انکوباسیون از ۴ تا ۴۸ ساعت افزایش یافت که بیانگر پیشرفت تدریجی تجزیه پروتئین در شرایط تخمیر آزمایشگاهی است. بیشترین مقادیر قابلیت هضم پروتئین در تمامی تیمارها در زمان ۴۸ ساعت مشاهده شد. مقایسه قابلیت هضم پروتئین تیمارها در هر یک از زمان‌های انکوباسیون نشان داد که جایگزینی در سطوح ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد نسبت به تیمار شاهد معنی دار نشد ($p > 0.05$). این روند در تمامی زمان‌های انکوباسیون (۴، ۸، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت) مشاهده گردید. در گزارش Jayanegara et al, 2012 بیان شد که تانن‌ها در سطوح پایین تا متوسط لزوماً موجب کاهش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین نمی‌شوند، که با نتایج ما همخوانی دارد؛ به‌طوری‌که اثر تانن به مقدار مصرف و نوع آن وابسته است. همچنین، نتایج این مطالعه با یافته‌های Patra and Saxena, 2011 که گزارش کردند حضور ترکیبات فنولی گیاهی می‌تواند با ایجاد کمپلکس تانن-پروتئین موجب کاهش تجزیه سریع پروتئین در شکمبه شود، بدون آنکه در همه موارد قابلیت هضم کل پروتئین را به‌طور معنی‌دار کاهش دهد. این موضوع می‌تواند توضیح‌دهنده عدم کاهش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی مکمل باشد، زیرا مقدار تانن موجود در مکمل احتمالاً در محدوده قابل تحمل میکروفلور شکمبه قرار داشته است، مطابقت دارد.

جدول ۱۳. تأثیر سطوح مختلف جایگزینی ترکیب پودر لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار با کنجاله سویا بر قابلیت هضم پروتئین (درصد) در زمان‌های مختلف انکوباسیون

Table 13. Effect of different replacement levels of a mixture of black soldier fly larva powder and pomegranate pulp for soybean meal on protein digestibility (%) at various incubation times.

تیمار	زمان انکوباسیون (ساعت)				
	۴	۸	۱۲	۲۴	۴۸
۱	32.7	38.3	48.1	58.3	58.8
۲	41.4	45.2	47.3	48	59.9
۳	37.3	38.2	41.5	44.9	53.6
۴	44.1	43.8	47.6	49	50.2
سطح معنی داری	0.06	0.7	0.5	0.06	0.5
خطای استاندارد	2.7	5.3	3.5	3.2	5.4
میانگین					

تیمار ۱: جیره پایه، تیمار ۲: جیره پایه + ۱۰٪ جایگزینی، تیمار ۳: جیره پایه + ۲۰٪ جایگزینی، تیمار ۴: جیره پایه + ۳۰٪ جایگزینی

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که لارو مگس سرباز سیاه (*Hermetia illucens*) می‌تواند به‌عنوان منبعی پایدار و مؤثر برای جایگزینی بخشی از کنجاله سویا در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار گیرد. افزودن تفاله انار به‌عنوان منبع طبیعی تانن در سطوح پایین تا متوسط، اثرات مثبتی بر فرآیند تخمیر شکمبه‌ای داشت و موجب افزایش حجم گاز تولیدی، بهبود قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین، و پایداری pH در محدوده مطلوب گردید. در مقابل، سطوح بالای تانن باعث کاهش نرخ و پتانسیل تخمیر و محدود شدن فعالیت میکروبی شد. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در ساعات اولیه انکوباسیون بیانگر نقش حفاظتی تانن‌ها در جلوگیری از تجزیه سریع پروتئین در شکمبه بود، در حالی‌که در مراحل پایانی انکوباسیون، با شکسته شدن بخشی از پیوندهای تانن-پروتئین، پروتئین‌های عبوری مجدداً در دسترس میکروب‌ها قرار گرفتند. نتایج نشان داد که ترکیب مذکور تأثیرات مثبتی بر تخمیر شکمبه‌ای دارد؛ به‌طوری‌که تیمار ۶ در آزمایش اول موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و کاهش pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی شد. در آزمایش دوم نیز تیمار ۲ بهترین عملکرد را از نظر تولید گاز، قابلیت هضم و کاهش نیتروژن آمونیاکی داشت. به‌طور کلی، این ترکیب می‌تواند به‌عنوان منبع پروتئینی پایدار و جایگزین مناسبی برای بخشی از کنجاله سویا در جیره نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار بگیرد. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که ترکیب بهینه لارو مگس سرباز سیاه با تفاله انار می‌تواند موجب افزایش بهره‌وری از پروتئین، کاهش اتلاف نیتروژن، و بهبود پایداری زیست‌محیطی جیره‌های نشخوارکنندگان شود.

بنابراین، این ترکیب را می‌توان به‌عنوان یک منبع پروتئینی نوآورانه، اقتصادی و سازگار با محیط زیست در تغذیه نشخوارکنندگان توصیه کرد.

مشارکت نویسندگان

تعارض منافع

بنا بر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

منابع

رزم‌آذر، وحیده؛ تربتی‌نژاد، نورمحمد؛ سیف‌دواتی، جمال و زره‌داران، سعید. (۱۳۹۵). تأثیر ارقام مختلف پوست انار بر قابلیت هضم ماده خشک، جمعیت پروتوزا و تولید گاز متان به روش آزمایشگاهی. *نشریه پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۴(۲)، ۱۱۱-۱۳۳.

علیزاده قمصری، امیرحسین و حسینی، سید عبدالله. (۱۴۰۰). مروری بر استفاده از حشرات در تغذیه‌ی طیور: فرصت‌ها و چالش‌ها. *نشریه علوم دامی*، ۱۳۱(۱)، ۱۶۷-۱۸۶.

کولیوند، ابوالفضل؛ آذرفر، آرش؛ فدایی، امیر و عزیزی، ایوب. (۱۴۰۱). مقایسه‌ی ارزش تغذیه‌ای منابع مختلف پروتئینی حاصل از واکنش تانن‌های استخراج‌شده از ضایعات کشمش با خیساب ذرت در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۴(۳)، ۲۶۹-۲۸۷.

REFERENCES

- Al Rharad, A.; El Aayadi, S.; Avril, C.; Souradjou, A.; Sow, F.; Camara, Y.; Hornick, J.-L.; Boukrouh, S. (2025). Meta-Analysis of Dietary Tannins in Small Ruminant Diets: Effects on Growth Performance, Serum Metabolites, Antioxidant Status, Ruminal Fermentation, Meat Quality, and Fatty Acid Profile. *Animals*, 15, 596. <https://doi.org/10.3390/ani15040596>
- AOAC International. (2005). Official methods of analysis (18th ed.). Arlington, VA, USA: AOAC International.
- Arango-Gutierrez, G. P., Vergara-Ruiz, R. A., & Mejia-Velez, H. (2004). Compositional, microbiological, and protein digestibility analysis of larval meal of *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae) at Angelopolis, Antioquia, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 57, 2491–2499.
- Barman, K., & Rai, S. N. (2008). In vitro nutrient digestibility, gas production and tannin metabolites of *Acacia nilotica* pods in goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 21(1), 59–65.
- Besharati, M., Maggiolino, A., Palangi, V., Kaya, A., Jabbar, M., Eseceli, H., Palo, P. D., & Lorenzo, J. M. (2022). Tannin in ruminant nutrition: Review. *Molecules*, 27, 8273. <https://doi.org/10.3390/molecules27238273>
- Bhatta, R., Saravanan, M., Boruah, L., & Sampath, K. T. (2012). Nutrient content, in vitro ruminal fermentation characteristics, and methane reduction potential of tropical tannin-containing leaves. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92, 2929–2935. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5703>
- Blummel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). In vitro gas production: A technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77, 24–34.
- Broderick, G. A., & Kang, J. H. (1980). Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. *Journal of Dairy Science*, 63, 64–75.
- Finke, M. D., & Oonincx, D. G. A. B. (2017). Nutrient content of insects. In A. van Huis & J. K. Tomberlin (Eds.), *Insects as food and feed: From production to consumption* (pp. 291–316). Wageningen Academic Publishers.
- Frutos, P., Hervas, G., Giraldez, F. J., & Mantecon, A. R. (2004). Tannins and ruminant nutrition: A review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191–202.
- Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1998). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 72, 261–281.
- Getachew, G., DePeters, E. J., & Robinson, P. H. (2004). Optimizing in vitro gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, 58(1).
- Hassanat, F., & Benchaar, C. (2013). Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 332–339. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5763>
- Hristov, A. N., Bannink, A., Crompton, L. A., Huhtanen, P., Kreuzer, M., McGee, M., et al. (2019). Invited review: Nitrogen in ruminant nutrition: A review of measurement techniques. *Journal of Dairy Science*, 102(7), 5811–5852. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15829>
- Ioselevich, M., Steinga, H., Rajamurodov, Z., & Drochner, W. (2004). Nutritive value of silkworm pupae for ruminants. In *Proceedings of the 116th VDLUFA Kongress* (p. 108). Rostock: VDLUFA.
- Jahani, A. H., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A., Rezayazdi, K., & Hashemi, M. (2011). Effect of various medicinal plant essential oils from semi-arid climates on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. *African Journal of Microbial Research*, 5, 4812–4819.
- Khonkhaeng, B., Wanapat, M., Wongtangtintharn, S., Phesatcha, K., Supamong, C., Suntara, C., & Cherdthong, A. (2022). Tropical plant phytonutrient improves the use of insect protein for ruminant feed. *Agriculture*, 12, 1628.
- Lavrencic, A., & Pirman, T. (2021). In vitro gas and short-chain fatty acid production from soybean meal treated with chestnut and quebracho wood extracts by using sheep rumen fluid. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 30, 312–319. <https://doi.org/10.22358/jafs/144587/2021>
- Loregian, K. E., Pereira, D. A. B., Rigon, F., Magnani, E., Marcondes, M. I., Baumel, E. A., & Paula, E. M. (2023). Effect of tannin inclusion on the enhancement of rumen undegradable protein of

- different protein sources. *Ruminants*, 3, 413–424. <https://doi.org/10.3390/ruminants3040034>
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241–256. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- Makkar, H. P., Blummel, M., Borowy, N. K., & Becker, K. (1993). Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(2), 161–165.
- Maurer, V., Holinger, M., Amsler, Z., Fruh, B., Wohlfahrt, J., Stamer, A., & Leiber, F. (2016). Replacement of soybean cake by *Hermetia illucens* meal in diets for layers. *Journal of Insects for Food and Feed*, 2, 83–90.
- Min, B. R., Barry, T. N., Attwood, G. T., & McNabb, W. C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 106, 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(03\)00041-5](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(03)00041-5)
- Molina-Alcaide, E., & Yanez-Ruiz, D. R. (2008). Potential use of olive by-products in ruminant feeding. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 247–264. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.021>
- Mueller-Harvey, I. (2006). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 2010–2037. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- Mueller-Harvey, I. (2021). Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86:2010–2037. DOI: 10.1002/jsfa.2577
- Oonincx, D. G. A. B., & de Boer, I. J. M. (2012). Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans – A life cycle assessment. *PLoS ONE*, 7(12), e51145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051145>
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92(2), 499–503. <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 24–37. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4152>
- Paula, E. M., Broderick, G. A., Danes, M. A. C., Lobos, N. E., Zanton, G. I., & Faciola, A. P. (2017). Effects of replacing soybean meal with canola meal or treated canola meal on ruminal digestion, omasal nutrient flow, and performance in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 101, 1–12. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13392>
- Raab, L., Cafantaris, B., Jilg, T., & Menke, K. H. (1983). Rumen protein degradation and biosynthesis. *British Journal of Nutrition*, 50(3), 569–582. <https://doi.org/10.1079/BJN19830128>
- Sans, P., & Combris, P. (2015). World meat consumption patterns: An overview of the last fifty years (1961–2011). *Meat Science*, 114, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.012>
- Sayd, T., Chambon, C., Popova, M., Morgavi, D. P., Torrent, A., Blinet, S., & Niderkorn, V. (2022). Impact of tannin supplementation on proteolysis during post ruminal digestion in wethers using a dynamic in vitro system: A plant (*Medicago sativa*) digestomic approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70, 2221–2230. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07378>
- Sheikh, I. U., Banday, M. T., Baba, I. A., Adil, S., Nissa, S. S., Zaffer, B., et al. (2018). Utilization of silkworm pupae meal as an alternative protein source in the diet of livestock and poultry: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6, 1010–1016.
- Sumbule, E. K., Ambula, M. K., Osuga, L. M., Changeh, J. G., Mwangi, D. M., Subramanian, S., & Tanga, C. M. (2021). Cost-effectiveness of black soldier fly larvae meal as substitute of fishmeal in diets for layer chicks and growers. *Sustainability*, 13, 6074. <https://doi.org/10.3390/su13116074>
- Toral, P. G., Hervas, G., Gonzalez-Rosales, M. G., Mendoza, A. M., Robles-Jimenez, L. E., & Frutos, P. (2022). Insects as alternative feed for ruminants: Comparison of protein evaluation methods. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12, 2–8. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00671-2>
- Van Huis, A., & Oonincx, D. G. A. B. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 37, 43. <https://doi.org/10.1007/s13593-017-0452-8>
- Wallace, R. J., Onodera, R., & Cotta, M. A. (1997). Metabolism of nitrogen-containing compounds. In

- P. N. Hobson & C. S. Stewart (Eds.), *The rumen microbial ecosystem* (pp. 283–328). London: Chapman & Hall.
- Yao, K. Y., Gu, F. F., & Liu, J. X. (2020). In vitro rumen fermentation characteristics of substrate mixtures with soybean meal partially replaced by microbially fermented yellow wine lees. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 18–24. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1686433>
- Zhou, Y., Wang, D., Zhou, S., Duan, H., Guo, J., & Yan, W. (2022). Nutritional composition, health benefits, and application value of edible insects: A review. *Foods*, 11, 3961. <https://doi.org/10.3390/foods11243961>
- Jayanegara, A., Goel, G., Makkar, H.P.S., & Becker, K. (2012). Reduction in methane emissions from ruminants by plant secondary metabolites: A meta-analysis. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96, 365–375.