تولیدات دامی
دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵
صفحه‌های ۴۱۱-۳۹۹

بررسی ساخت و اثرات کاربرد یک ترکیب نیتروژنه آهسته رهش غیرپروتئینی برای استفاده در تغذیه نشخوارکنندگان

علیرضا طالبیان مسعودی[۱]*، محمد معینی [۲]، منوچهر سوری [۳]، هرمز منصوری [۴]، معصومه عبدلی[۵]

۱. استادیار، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران

۳. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران

۴. استادیار بازنشسته، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

۵. استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی اراک، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۰۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۳/۱۱

چکیده

امکان ساخت و اثرات استفاده از یک ترکیب آهسته رهش نیتروژن‌دار غیرپروتئینی در تغذیه دام‌های نشخوارکننده در یک آزمایش دو مرحله‌ای بررسی شد. در مرحله اول، ساخت ترکیب آهسته رهش با استفاده از متصل نمودن زنجیره کربنی شاخه‌دار به ملکول اوره و کاهش درجه حل‌پذیری آن انجام شد و نمونه‌های ساخته شده از نظر ساختمان شیمیایی، خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بررسی شد. در مرحله دوم، اثرات استفاده از ترکیب ساخته شده بر خصوصیات تخمیر شکمبه، قابلیت هضم خوراک، تولید پروتئین میکروبی و تعادل نیتروژن در مقایسه با اوره معمولی و جیره شاهد فاقد نیتروژن غیرپروتئینی در یک آزمایش درون تنی بررسی شد. برای این منظور از چهار راس گوسفند بالغ دارای فیستولای شکمبه‌ای در قالب طرح آزمایشی مربع لاتین چرخشی استفاده شد. آزمایشات طیف‌سنجی مادون قرمز و رزونانس مغناطیسی پروتون و بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ترکیب ساخته شده موید تشکیل ترکیب موردنظر بود. استفاده از ترکیب آهسته رهش در جیره باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی و تغییرات pH، مقدار و نسبت اسیدهای چرب فرار تولید شده در شکمبه شد. مصرف خوراک و قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز و همچنین تولید پروتئین میکروبی تحت تاثیر ترکیب آهسته رهش قرار نگرفت، ولی مصرف نیتروژن، قابلیت هضم ظاهری و دفع آن از طریق ادرار کاهش یافت ($P<0/01$). براساس نتایج این آزمایش، ترکیب مورد نظر قابلیت جایگزینی با اوره را دارد و استفاده از آن در جیره نشخوارکنندگان شرایط ایمن‌تری را از لحاظ به کارگیری نیتروژن اوره‌ای فراهم می کند.

کلیدواژه‌ها: اوره، رزونانس مغناطیسی پروتون، طیف سنجی مادون قرمز، قابلیت هضم

* نویسنده مسئول Email: armasoudi@gmail.com

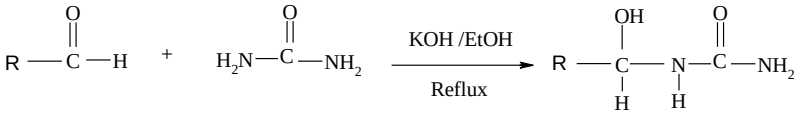
مقدمه

اگرچه سال‌های نسبتا زیادی است که مشخص گردیده نشخوارکنندگان به واسطه وجود میکروفلور شکمبه قادر به استفاده از نیتروژن غیر پروتئینی می باشند لیکن در بیشتر مناطق جهان بویژه خاورمیانه،آفریقا و مکزیک با وجود جمعیت دامی قابل توجه، مقادیر نسبتا کمی از نیتروژن غیر پروتئینی در جیره دام‌ها مورد استفاده قرار می گیرد[۱۰].

در کشور ما نیز علیرغم تقاضای روز افزون تولیدات دامی وکمبود منابع خوراک دام که مهمترین چالش پیش روی توسعه صنعت دامپروری است، از یک سو و وجود ذخایر غنی گاز طبیعی به عنوان پیش ساز تولید اوره از سوی دیگر، نیتروژن غیر پروتئینی در تغذیه دام کمتر مورد توجه قرار گرفته است.یکی از مهمترین دلایل این موضوع مشکلات مربوط به تغذیه اوره در جیره است. اوره با کارایی کمتراز منابع حاوی پروتئین حقیقی مورد استفاده قرار می گیرد[۳]که به دلیل سریع تر بودن نرخ تجزیه در شکمبه در مقایسه با نرخ مصرف آمونیاک حاصل از آن توسط باکتریهای شکمبه است که باعث تجمع شکمبه ای و جذب آمونیاک، ایجاد مسمومیت و یا دفع آن به شکل اوره در ادرار می شود[۱۱ و۱۲]. کاهش دفع نیتروژن از عملیات پرورش دام در دهه اخیر به اولویت رو به افزایش متخصصین تغذیه دام تبدیل شده است[۲۱]. از طرفی همزمان کردن انرژی قابل تخمیر و فراهمی آمونیاک در شکمبه،یک راهبرد برای بهبود مصرف اوره بوسیله نشخوار کنندگان است[۱۵]. این موضوع بوسیله افزایش قابلیت تجزیه کربوهیدرات‌ها در جیره یا کاهش نرخ تجزیه اوره انجام می شود که منجر به توسعه فراورده های آهسته رهش اوره شده است . هدف از انجام پژوهش حاضر، ساخت و ارزیابی کارایی یک ترکیب آهسته رهش نیتروژن دار غیر پروتئینی به منظور جایگزینی با اوره برای استفاده در تغذیه دام نشخوار کننده بود.

مواد و روشها

ساخت ترکیب آهسته رهش مورد نظر از طریق اتصال زنجیره کربنی به ملکول اوره که به کاهش درجه حل پذیری آن می انجامد طبق واکنش رابطه زیر انجام شد[۱۷] :



رابطه (۱)

کهR، زنجیر شاخه دار یا خطی گروه آلکیل با تعداد سه یا چهار اتم کربن تحت شرایط غیر هیدروژنه است یعنی شرایطی که هیدروژن و دمای بالا یا فشار به محیط واکنش وارد نمی شود.

در این تحقیق مواد اولیه برای ساخت ترکیب مورد نظر شامل اوره (تولید مجتمع پتروشیمی رازی کرمانشاه) و ایزوبوتیرآلدئید (تولیدمجتمع پتروشیمی شازند)بود.برای این منظور مقدار مولی یکسانی از اوره و ایزوبوتیر آلدئید به عنوان تامین کننده زنجیره کربنی مورد نیاز به حداقل مقدار مورد نیاز حلال اتانول اضافه شد. مخلوط بوسیله افزودن پتاس تا pH ۱۰ قلیایی وسپس باز چرخ (بخارهای حاصل از تقطیر مجدداً به درون سیستم برگشت داده می شد) گردید تا محلولی همگن ایجاد شود. بازچرخ به مدت حدود یک ساعت برای کامل شدن انجام واکنش ادامه یافت. در خاتمه با استفاده از پمپ خلاء، الکل خارج شد سپس الکل و آلدئید اضافی بااستفاده از هوای داغ، خارج گردید. بعد از تبخیر مایعات اضافی، ترکیب جامد باقی مانده با آب شسته شد تا اوره اضافی حذف شود.

بررسی ساختمان شیمیایی ترکیب ساخته شده توسط طیف سنجی مادون قرمز و رزونانس مغناطیسی پروتون انجام شد. برای طیف مادون قرمزترکیب ساخته شده از دستگاه FT-IR(شرکت سما میکرو، ایران) و با تکنیک قرص پتاسیم بروماید و برای طیف رزونانس مغناطیسی از دستگاه NMR(Ultra shield-400 MHz،شرکت

بروکر،آلمان) در حلال دی متیل سولفوکسید با شاهد داخلی تترا متیل سیلان و در دمای محیط استفاده شد. انرژی خام ترکیب بوسیله بمب کالریمتر(1261 شرکت PARR ، آمریکا) اندازه گیری شد.

آزمایش های درون تنی با استفاده از چهار رأس گوسفند نر بالغ نژاد فراهانی با میانگین وزنی۴/۵ ± ۵۳/۵ دارای فیستولای شکمبه طی سه دوره ۲۲ روزه شامل ۱۴ روز عادت پذیری و هشت روز نمونه برداری در قالب یک طرح مربع لاتین با تکرار جزئی اجرا شد. دامها درجایگاه بسته درون قفس‌های متابولیکی نگهداری شدند و در تمام مدت دسترسی آزاد به آب داشتند.جیره های آزمایشی شامل جیره شاهد(بدون مکمل نیتروژن غیر پروتئینی)، جیره حاوی اوره و جیره حاوی ترکیب آهسته رهش ساخته شده به عنوان مکمل نیتروژن دار غیر پروتئینی با انرژی قابل متابولیسم ۱/۹ مگاکالری در کیلوگرم و پروتئین خام ۱۰ درصد و نسبت علوفه به کنسانتره ۷۰ : ۳۰ به نحوی تنظیم شدند که از نظرمقدار انرژی و نیتروژن مشابه باشند. پس از تعیین حداکثر مصرف اختیاری خوراک در دوره عادت پذیری ، در دوره نمونه برداری روزانه مقدار خوراکی معادل ۹۰ درصد آن در دو نوبت صبح و عصر در اختیار دامها قرار داده شد. نسبت مواد خوراکی جیره های آزمایشی و ترکیب شیمیایی آنها(گرم در کیلوگرم ماده خشک) در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. نسبت مواد خوراکی و ترکیب شیمیایی جیره های آزمایشی

مواد خوراکی (گرم در کیلوگرم ماده خشک)	جیره های آزمایشی		
	شاهد	جیره ۲	جیره ۳
یونجه خشک	۳۶۰	۸۷	۸۷
کاه گندم	۳۲۵	۶۰۳	۵۹۹
جو	۱۰۰	۲۴۰	۲۳۲
سبوس	۱۹۰	۳۰	۳۰
اوره	–	۱۵	–
ترکیب آهسته رهش	–	–	۲۷
مخلوط معدنی–ویتامینی[1]	۲۵	۲۵	۲۵
ترکیب شیمیایی(گرم در کیلوگرم ماده خشک)			
ماده خشک	۹۵۲/۹	۹۵۳/۹	۹۸۳/۴
ماده آلی	۸۹۴/۸	۸۴۲/۵	۸۴۴/۶
پروتئین خام	۱۰۶/۳۴	۱۰۴/۰	۱۰۲/۳۳
انرژی قابل متابولیسم(مگاکالری در کیلوگرم)	۱/۹	۱/۹	۱/۹
دیواره سلولی	۵۱۰	۵۴۵/۹	۵۴۴/۷
دیواره سلولی منهای همی سلولز	۲۷۵/۱	۲۸۸/۲	۲۸۷/۴

۱. ترکیب در کیلوگرم مکمل شامل : ۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۵۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D_3 ، ۰/۲ گرم ویتامین E ، ۱۹۶ گرم کلسیم، ۹۶ گرم فسفر،۲۰ گرم منیزیم، ۵۴ گرم سدیم،۳۰۰۰ میلی گرم آهن، ۳۰۰ میلی گرم مس، ۲۵۰۰ میلی گرم منگنز،۱۰۰ میلی گرم کبالت،۶۰۰۰ میلی گرم روی، ۱۰۰ میلی گرم ید و ۲۵ میلی گرم سلنیم

جمع آوری کل مدفوع و ادرار در هفت روز آخر هر دوره انجام شد. نمونه های خوراک، باقیمانده خوراک و مدفوع با استفاده از روشهای استاندارد برای تعیین ماده خشک، ماده آلی و نیتروژن مورد تجزیه قرار

گرفت[۱].دیواره سلولی و دیواره سلولی منهای همی سلولز به روش ون سست[۲۲]و قابلیت هضم ظاهری و کل مواد مغذی قابل هضم نمونه ها با روش جمع آوری کامل مدفوع[۹]همچنین تعادل نیتروژن در دامها بوسیله جمع آوری ادرار ۲۴ ساعته تعیین گردید[۸].

نمونه شیرابه شکمبه برای تعیین غلظت نیتروژن آمونیاکی ،pHو اسید های چرب فرار در ساعت های صفر، ۰/۵، یک، دو، سه، چهار و شش ساعت بعد از خوراک دهی در روز ۲۲ هر دوره بوسیله پمپ دستی از شکمبه برداشت شد. اسید های چرب فرار در نمونه های مایع شکمبه در ساعت های صفر، دو و چهار پس از خوراک دهی اندازه گیری شد[۶]. مقدار تولید پروتئین میکروبی در دام‌های آزمایشی با استفاده از روش توصیه شده [۴] و مقدار ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه نیز با توجه به روش[۲] برآورد شد.

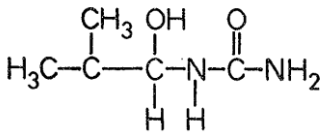
داده ها در قالب طرح مربع لاتین با تکرار جزئی با استفاده از رویه GLMو MIXED به وسیله نرم افزارSAS،(۲۰۰۲) برای مدل (رابطه ۲) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. اثر جیره های آزمایشی و دوره به عنوان اثرات ثابت و دام به عنوان اثر تصادفی در مدل منظور شدند.

$$Y_{ijk}=\mu+T_i+P_j+Ak+E_{iik}$$ رابطه (۲)

که Y_{ijk}،مشاهدات؛μ،میانگین کل؛Ti،اثر تیمار؛Pj،اثر دوره؛Ak،اثر حیوان و E_{ijk}،اثر خطای آزمایشی می باشد.

نتایج

ترکیب ساخته شده با رابطه شیمیایی دو با نام ایزوبوتیر آلدئید مونو اوره یا پروپانال-۲-متیل-منو اوره می باشد.

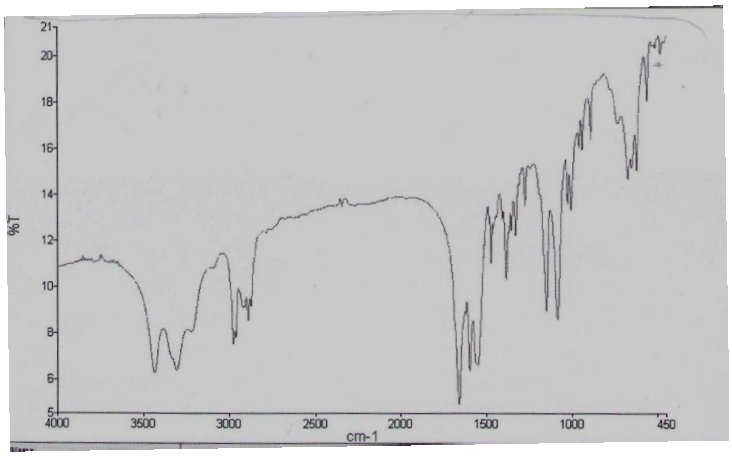


رابطه (۲)

ترکیب به دست آمده ماده‌ای جامد، سفید رنگ و بلوری بود که در اتانول قابل حل بوده لیکن در آب به مقدار کمی حل می‌شود. انرژی خام ترکیب ساخته شده ۶/۱۹ مگا کالری در کیلوگرم و مقدار نیتروژن آن ۲۵ درصد بود.

طیف سنجی مادون قرمز ترکیب ساخته شده در شکل۱ نشان داده شده است که منطبق بر طیف گرفته شده توسط محققین دیگر بود[۱۷]. این امر بیانگر انجام صحیح واکنش و تشکیل ایزوبوتیر آلدئید مونو اوره است. همچنین تفسیر طیف مزبور به شرح ذیل تایید کننده ساختمان شیمیایی این ترکیب می‌باشد.

FT-IR (KBr): 3435cm-1(OH), 3306 (NH stretch), 2977 (C-H),1597 (NH bend),1660 (CO), 1383 (C-N)

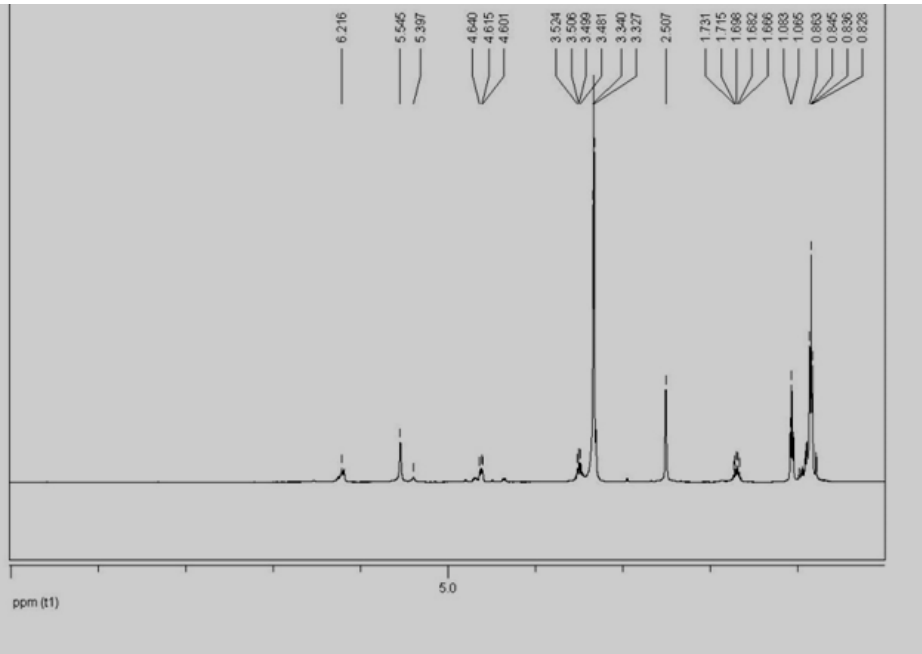


شکل ۱.طیف سنجی مادون قرمز ترکیب ساخته شده

همچنین طیف سنجی رزونانس مغناطیسی پروتون گرفته شده در شکل ۲ نشان داده شده است. تفسیر ذیل نشان دهنده تشکیل ترکیب مورد نظراست.

HNMR (400MHz , DMSO): δ = 0.84 ppm (6H, AB-quarted, $2CH_3$), 1.69(1H, m, $CH(CH3)_2$, 3.50(1H, m, CH-OH), 4.61 (1H , brs , OH) , 5.54 (2H, brs,NH_2) , 6.20 (1H, brd, NH).

به دلیل اینکه در طیف رزونانس مغناطیسی پروتون در ناحیه ۹/۵ تا ۹/۶ هیچ پیکی دیده نمی شود می توان نتیجه گرفت که آلدئید اولیه در ترکیب نهایی وجود ندارد.



شکل۲.طیف سنجی رزونانس مغناطیسی پروتون ترکیب ساخته شده

نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه در زمان‌های نمونه برداری در جدول ۲ نشان داده شده است. غلظت نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه نیم ساعت پس از مصرف خوراک در دام‌های تغذیه شده با جیره شاهد و جیره حاوی اوره بیشتر از دام‌های دریافت کننده جیره حاوی ترکیب آهسته رهش بود. یک ساعت پس از مصرف خوراک بیشترین نیتروژن آمونیاکی متعلق به دام‌های گروه جیره حاوی اوره بود و اختلاف معنی داری با جیره شاهد و ترکیب آهسته رهش داشت. در ساعت ۲ پس از مصرف خوراک، بیشترین نیتروژن آمونیاکی متعلق به دام‌های تغذیه شده با جیره های حاوی اوره و شاهد بود که این روند در ساعت ۳ پس از مصرف خوراک نیز مشاهده گردید. در ساعت ۴ و ۶ پس از مصرف خوراک اگرچه از نظر عددی بازهم مقدار نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه در دام‌های گروه جیره شاهد و اوره بیشتر از جیره حاوی ترکیب آهسته رهش بود ولی این اختلاف معنی دار نبود.

جدول۲. غلظت نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه در زمان‌های نمونه برداری پس از مصرف خوراک

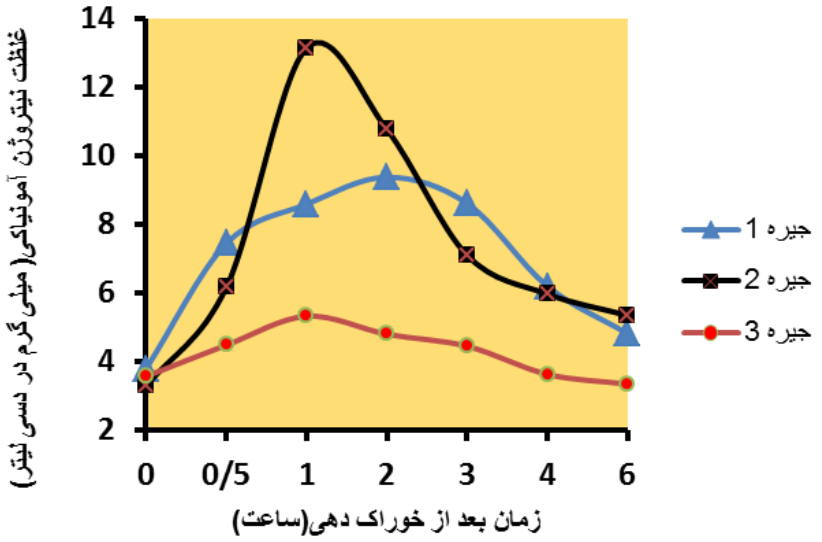
زمان پس از خوراک دهی(ساعت)	جیره های آزمایشی			SEM	P-value
	۱	۲	۳		
صفر	۳/۸۲	۳/۲۹	۳/۵۷	۰/۶۸	۰/۹۴
۰/۵	۷/۴۴[a]	۶/۱۷[a]	۴/۴۸[b]	۰/۳۶	۰/۰۰۸
۱	۸/۵۰[b]	۱۳/۱۴[a]	۵/۳۲[b]	۱/۱۱	۰/۰۲
۲	۹/۳۷[a]	۱۰/۷۷[a]	۴/۸۰[b]	۰/۵۷	۰/۰۰۳
۳	۸/۶۱[a]	۷/۱۰[ab]	۴/۴۵[b]	۰/۸۴	۰/۰۴
۴	۶/۱۹	۵/۹۷	۳/۶۰	۱/۲۱	۰/۴۱
۶	۴/۸	۵/۳۰	۳/۳۰	۰/۸۱	۰/۳۳

a-b: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

دامنه تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه در زمان‌های نمونه برداری پس از مصرف خوراک در تصویر ۳ نشان داده شده است. این غلظت درجیره حاوی اوره حاوی پیک نسبتاً بلندی در محدوده ۲-۱ ساعت پس از مصرف خوراک بود درحالیکه افزایش نسبتاً کمتر و تدریجی غلظت نیتروژن آمونیاکی به دنبال مصرف جیره شاهد طی نیم تا سه ساعت پس از مصرف خوراک مشاهده شد. در جیره حاوی ترکیب آهسته رهش، دامنه تغییرات غلظت نیتروژن آمونیاکی بسیار کمتر از دو جیره دیگر بود.



تصویر ۳. روند تغییرات نیتروژن آمونیاکی شیرابه شکمبه پس از مصرف خوراک

pH شیرابه شکمبه در ساعت های مختلف نمونه برداری(صفر، ۰/۵، یک، دو، سه، چهار و شش) پس از خوراک دهی برای جیره های آزمایشی در جدول ۳ نشان داده شده است. قبل از خوراک دهی(ساعت صفر) ، ۰/۵و یک ساعت پس از خوراک دهی تفاوت معنی داری در مقدار pH مایع شکمبه دامهای آزمایشی مشاهده نشد. در ساعت دو پس از خوراک دهی pH مایع شکمبه دامهای گروه جیره شاهد کمتر از جیره اوره و ترکیب آهسته رهش بود(p<۰/۰۵). در ساعت سه پس از خوراک دهی، اختلاف معنی دار بین جیره های آزمایشی مشاهده گردید. در این ساعت مشابه با ساعت دو، pH مایع شکمبه در گروه جیره شاهد کمتراز دامهای تغذیه شده با جیره حاوی اوره یا ترکیب آهسته رهش بود. در ساعت چهار پس از خوراک دهی این روند ادامه یافت به نحوی که بیشترین مقدار pH مایع شکمبه همچنان متعلق به دامهای گروه جیره ۳ بود. درساعت شش نیزpH مایع شکمبه در دامهای گروه جیره ۳ بالاتر از سایرین بود هرچند اختلاف معنی دار نبود.

جدول ۳.اثر استفاده از اوره یا ترکیب آهسته رهش برتغییرات pH شیرابه شکمبه در زمانهای نمونه برداری پس از مصرف خوراک

زمان	جیره های آزمایشی			SEM	p-value
پس از خوراک دهی(ساعت)	۱	۲	۳		
صفر	۶/۹۲	۶/۸۷	۶/۹۳	۰/۰۶	۰/۶۸
نیم	۶/۷۷	۶/۸۰	۶/۸۷	۰/۰۵	۰/۴۷
یک	۶/۶۷	۶/۷۹	۶/۸۴	۰/۰۵	۰/۲۳
دو	۶/۵۰ b	۶/۷۸ a	۶/۷۷ ab	۰/۰۶	۰/۰۴
سه	۶/۴۲ b	۶/۵۶ ab	۶/۶۹ a	۰/۰۴	۰/۰۳
چهار	۶/۴۹ b	۶/۴۶ b	۶/۷۳ a	۰/۰۵	۰/۰۴
شش	۶/۵۹	۶/۵۵	۶/۷۸	۰/۰۷	۰/۲۷

a-b: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنیدار است.

SEM: خطای استاندارد میانگینها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

دادههای مربوط به مصرف خوراک و قابلیت هضم مواد مغذی در جدول ۴ آورده شده است. استفاده از اوره و ترکیب آهسته رهش در جیره های آزمایشی اثر معنی داری بر مصرف خوراک نداشت. علیرغم عدم وجود اختلاف معنی دار، مصرف ماده خشک دامهای تغذیه شده با جیره حاوی ترکیب آهسته رهش، کمتر از سایرجیره ها بود.

تفاوت معنی داری نیز در مصرف ماده آلی توسط دامهای تغذیه شده با جیره های آزمایشی وجود نداشت همچنین قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی تحت تاثیر جیرههای آزمایشی قرار نگرفت. مقدار ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه برآورد شده بین جیرههای آزمایشی اختلاف معنی داری داشت به نحوی که در جیره شاهد به مراتب بالاتر از جیره حاوی ترکیب آهسته رهش بود (P<۰/۰۵). روند مشابهی در قابلیت هضم نیتروژن بین جیرههای آزمایشی مشاهده شد و در دامهای تغذیه شده با جیره شاهد، بیشترین مقدار قابلیت هضم نیتروژن اندازهگیری شد. قابلیت هضم دیواره سلولی و دیواره سلولی منهای همی سلولز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۴. اثر استفاده از اوره یا ترکیب آهسته رهش بر مصرف خوراک و قابلیت هضم ظاهری

متغیر	جیره‌های آزمایشی			SEM	P-value
	۱	۲	۳		
مصرف (گرم در روز)					
ماده خشک	۱۰۳۰/۵۱	۱۰۲۱/۲۸	۹۵۶/۰۷	۳۴/۲۸	۰ /۴۵
ماده آلی	۸۵۴/۰۸	۷۹۵/۲۶	۸۰۹/۴۸	۴۳/۱۷	۰/۶۲
ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه*	۳۳۹/۳۹[a]	۳۰۴/۳۷[ab]	۲۹۵/۲۶[b]	۱۰/۱۹	۰/۰۳
قابلیت هضم ظاهری(٪)					
ماده خشک	۶۰/۶۰	۵۷/۵۹	۵۷/۱۳	۱/۲۶	۰/۲۹
ماده آلی	۶۲/۵۳	۵۸/۸۷	۵۶/۱۴	۳/۱۷	۰/۳۵
نیتروژن	۷۲/۰۵[a]	۶۲/۹۲[ab]	۵۵/۱۸[b]	۱/۴۹	۰/۰۱
دیواره سلولی	۴۵/۰۰	۴۶/۷۷	۴۴/۸۶	۱/۰۵	۰/۴۲
دیواره سلولی منهای همی سلولز	۴۳/۱۱	۴۲/۹۳	۴۱/۲۳	۵/۵۶	۰/۸۱
نسبت دیواره سلولی قابل هضم به ماده آلی قابل هضم	۰/۴۶	۰/۵۱	۰/۵۱	۰/۰۰۵	۰/۰۹

*ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه= ماده آلی قابل هضم مصرف شده× ۰/۶۵(ARC، ۱۹۸۴)

a-b: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

اطلاعات مربوط به تعادل نیتروژن در جدول ۵ نشان داده شده است. میانگین مصرف نیتروژن روزانه در جیره حاوی ترکیب آهسته رهش کمتر از جیره شاهد و جیره حاوی اوره بود($p<۰/۰۵$). بین جیره های آزمایشی اختلاف معنی داری از نظر مقدار دفع نیتروژن مدفوع مشاهد نشد لیکن در جیره شاهد در مقایسه با سایر جیره‌ها، نسبت کمتری از نیتروژن دفع شده در بخش مدفوع مشاهده شد($p<۰/۰۱$).

مقدار دفع نیتروژن روزانه از طریق ادرار در دامهای آزمایشی تغذیه شده با جیره حاوی ترکیب آهسته رهش کمتر از دو جیره دیگر بود. محاسبه دفع نیتروژن ادرار بصورت درصد کل نیتروژن دفع شده نیز اختلاف معنی داری را بین جیره های آزمایشی نشان داد. به بیان دیگر در جیره حاوی ترکیب آهسته رهش در مقایسه با سایر جیره‌ها، نسبت کمتری از نیتروژن دفع شده در بخش ادرار دیده شد.

بین جیره های آزمایشی از لحاظ کل نیتروژن دفع شده اختلاف معنی داری مشاهده نشد. محاسبه کل نیتروژن دفع شده به صورت درصدی از نیتروژن مصرف شده اختلاف معنی‌داری را بین جیره های آزمایشی نشان نداد.

اطلاعات مربوط به دفع مشتقات پورینی ادرار و برآورد تولید پروتئین میکروبی در جدول ۶ آمده است.بین گروه‌های آزمایشی از لحاظ تولید پروتئین میکروبی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

جدول ۵. اثر استفاده از اوره یا ترکیب آهسته رهش برمصرف نیتروژن و دفع آن

متغیر	جیره های آزمایشی			SEM	P-value
	۱	۲	۳		
مصرف (گرم در روز)					
نیتروژن	۱۸/۶۰ a	۱۵/۵۹ ab	۱۳/۳۹ b	۰/۷۹	۰/۰۳
قابلیت هضم ظاهری (٪)					
نیتروژن	۷۲/۰۵ a	۶۲/۹۲ ab	۵۵/۱۸ b	۱/۴۹	۰/۰۱
دفع نیتروژن (گرم در روز)					
مدفوع	۵/۱۸	۵/۷۰	۵/۸۷	۰/۳۵	۰/۷
مدفوع نسبت به مصرف شده	۲۷/۹۴	۳۷/۰۶	۴۴/۸۰	۱/۴۹	۰/۰۱
مدفوع نسبت به کل دفع شده	۴۲/۱۱ b	۴۷/۶۴ b	۶۰/۴۳ a	۱/۴۹	۰/۰۰۷
ادرار	۷/۲۶ a	۶/۴۲ a	۴/۱۲ b	۰/۳۲	۰/۰۱
ادرار نسبت به مصرف شده	۳۸/۵۵ ab	۴۰/۸۲ a	۲۹/۶۲ b	۱/۱۱	۰/۰۰۷
ادرار نسبت به کل دفع شده	۵۷/۸۷ a	۵۲/۳۵ a	۳۹/۵۵ b	۱/۴۹	۰/۰۰۷
کل	۱۲/۴۴	۱۲/۱۳	۹/۹۹	۰/۶۵	۰/۱۵
نیتروژن مصرفی(٪)	۶۶/۴۹	۷۷/۸۹	۷۴/۴۲	۱/۴۱	۰/۰۷

a-b: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

جدول ۶.اثر کاربرد استفاده از اوره یا ترکیب آهسته رهش بر دفع مشتقات پورینی ادرار و تخمین تولیدپروتئین میکروبی

متغیر	جیره‌های آزمایشی			SEM	p-value
	۱	۲	۳		
دفع مشتقات پورینی ادرار(میلی مول در روز)					
آلانتوئین	۹/۶۷	۸/۳۳	۸/۷۴	۰/۹۶	۰/۷۵
گزانتین+ هیپوگزانتین	۱/۱۵	۱/۰۰	۱/۰۴	۰/۱۰	۰/۷۶
اسید اوریک	۰/۱۸۱	۰/۲۵۸	۰/۱۷۵	۰/۰۳	۰/۴۴
کل مشتقات پورینی دفع شده	۱۱/۰۱	۹/۶۰	۹/۹۶	۱/۰۹	۰/۷۹
پروتئین میکروبی					
تخمین نیتروژن میکروبی(گرم در روز)	۸/۹۵	۷/۷۳	۸/۰۶	۰/۹۴	۰/۷۸
تخمین پروتئین میکروبی(گرم در روز)	۵۵/۹۴	۴۸/۳۴	۵۰/۳۹	۵/۹۰	۰/۷۸
کارایی ساخت پروتئین میکروبی* (گرم نیتروژن میکروبی به ازای کیلوگرم ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه**)	۲۴/۳۸	۲۵/۳۵	۲۶/۶۴	۱/۷۷	۰/۴۱

*EMNS(g/Kg OMDRg)

**ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه= ماده آلی قابل هضم مصرف شده× ۰/۶۵(ARC، ۱۹۸۴)

a-b: تفاوت میانگین ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است. SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

مقدار تولید و نسبت برخی اسید های چرب فرار تولیدی تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار گرفت. همچنین اثر زمان نمونه برداری در غلظت اسید های چرب فرار معنی‌دار بود(p<۰/۰۱)؛ هر چند اثر متقابل معنی‌داری مشاهده نشد.

کل اسید های چرب فرار تولیدی در گروه جیره شاهد بیشترین و پس از آن به ترتیب جیره حاوی اوره و جیره ۳حاوی ترکیب آهسته رهش داشت(جدول ۷). این روند در ساعتهای دو، چهار و شش پس از مصرف خوراک به صورت مشابهی مشاهده شد.اختلاف معنی‌داری بین جیره‌های آزمایشی از لحاظ تولید اسید استیک در ساعات دو و چهار پس از مصرف خوراک وجود داشت به‌نحوی‌که مقدار تولید آن در جیره‌های شاهد و اوره بیشتر از جیره حاوی ترکیب آهسته رهش بود.

جدول ۷. اثر جیره های آزمایشی بر اسید های چرب فرار (میلی مول در لیتر) در شیرابه شکمبه

	زمان پس از تغذیه (ساعت)	جیره‌های آزمایشی ۱	۲	۳	SEM	p-value
غلظت کل اسیدهای چرب فرار		۸۹/۱۵ a	۸۲/۰۷ b	۷۱/۰۵ c	۱/۲۷	< ۰/۰۱
غلظت کل اسیدهای چرب فرار در	صفر	۷۶/۹۰	۷۱/۳۴	۶۵/۵۴	۲/۹۶	۰/۰۸
زمان‌های مختلف	دو	۱۰۰/۷۵ a	۹۵/۷۲ a	۷۶/۹۸ b	۳/۴۴	۰/۰۱
	چهار	۹۰/۸۴ a	۸۳/۳۱ ab	۷۳/۳۶ b	۴/۱۲	۰/۰۳
	شش	۸۸/۱۳a	۷۷/۹۳ab	۶۸/۳۳b	۳/۳۳	۰/۰۴
اسید استیک	صفر	۵۵/۰۶	۵۲/۲۰	۴۸/۶۹	۳/۴	۰/۳۱
	دو	۷۲/۴۵ a	۶۷/۵۲ a	۵۲/۱۱ b	۲/۸۲	۰/۰۱
	چهار	۶۶/۲۰ a	۵۸/۶۳ ab	۴۹/۴۶ b	۲/۹۲	۰/۰۴
	شش	۶۴/۶۱	۵۶/۷۸	۴۶/۹۷	۲/۸۹	۰/۰۳
اسید پروپیونیک	صفر	۱۳/۵۱ a	۱۲/۰۹ a	۹/۰۲ b	۰/۷۸	۰/۰۴
	دو	۱۷/۵۱ a	۱۸/۳۴ a	۱۲/۹۹b	۰/۵۴	۰/۰۰۳
	چهار	۱۵/۲۶	۱۷/۳۴	۱۴/۲۹	۱/۱۴	۰/۲۸
	شش	۱۵	۱۴	۱۲	۱/۲۶	۰/۳۸
اسید بوتیریک	صفر	۸/۳۲	۶/۲۹	۷/۸۲	۰/۳۷	۰/۰۴
	دو	۱۰/۷۰	۹/۸۵	۱۱/۸۵	۰/۷۱	۰/۲۶
	چهار	۱۰/۰۹ a	۶/۴۱ b	۱۰/۲۴ a	۰/۶۸	۰/۰۲
	شش	۸/۲۶ a	۶/۳۴ b	۹/۰۲ a	۰/۳۹	۰/۰۱
نسبت استات به پروپیونات		۴/۲۱	۳/۸	۴/۲۲	۰/۱۵	۰/۳۸
نسبت استات به بوتیرات		۷/۱۶a	۷/۱۱a	۵/۲۸b	۰/۲۷	۰/۰۱

a-b: تفاوت میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه معنی‌دار است.

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جیره۱- شاهد، جیره ۲- حاوی اوره و جیره ۳- حاوی ترکیب آهسته رهش

غلظت اسید پروپیونیک در زمان قبل از خوراک‌دهی و دو ساعت پس از مصرف خوراک به سبب نوع جیره های آزمایشی متفاوت بود (p<۰/۰۱)به نحوی که مقدار آن در جیره های شاهد و ۲ بیشتر از جیره ۳ بود.تولید اسید بوتیریک در ساعت ۴ و ۶ پس از مصرف خوراک نیز متفاوت بود و در ساعت ۴ در جیره ۳ و شاهد بیشتر از جیره ۲ بود و در ساعت ۶ نیز همین روند مشاهده شد.نسبت تولید اسید استیک به اسید پروپیونیک تحت تاثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت ولی نسبت اسید استیک به اسید بوتیریک متفاوت بود به‌نحوی‌که در جیره ۱ و ۲ بیشتر از جیره ۳ بود.

بحث

خوشخوراکی و مصرف ماده خشک می تواند تحت تاثیر استفاده از اوره و برخی ترکیبات آهسته رهش ساخته شده از آن که مزه تلخ دارند، قرار گیرد [۱۱]، ولی در این آزمایش این اثرات مشاهده نشد و دلیل این موضوع می تواند به سطح مورد استفاده اوره در جیره مربوط باشد زیرا مقدار اضافه شده به اندازه ای نیست که بتواند بر مصرف ماده خشک، تاثیر منفی بگذارد. همچنین عدم تغییر در قابلیت هضم ماده خشک ، ماده آلی، دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی سلولز تحت تاثیر استفاده از نیتروژن غیر پروتئینی در این آزمایش می تواند به دلیل کافی بودن غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه(علیرغم اختلاف در غلظت و الگوی آزاد شدن) برای فعالیت میکروبها و فرایند تخمیر باشد که در تمامی جیره ها و زمانهای نمونه برداری در دامنه طبیعی قرار داشت [۲۳].

در این آزمایش استفاده از ترکیب آهسته رهش باعث کاهش مصرف نیتروژن توسط دام در مقایسه با جیره شاهد و جیره حاوی اوره گردید. این موضوع به دلیل باقی ماندن بخشی از ترکیب آهسته رهش در آخور دامها بود که احتمالا می تواند نشان دهنده پذیرش پایین این ترکیب از سوی دام باشد. این اثر توسط دیگر محققین نیزگزارش شده است [۱۷]. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه که به دنبال آزادسازی تدریجی نیتروژن موجود در این ترکیب و دیگر ترکیبات نیتروژنه آهسته رهش رخ می دهد [۱۴] می‌تواند طی تخمیر، منبع نیتروژن را برای استفاده میکروب‌ها در مدت طولانی تری فراهم نماید و از اینرو همزمانی بیشتری بین آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی و فراهمی کربوهیدرات بوجود می‌آید که باعث تولید بیشتر پروتئین میکروبی می‌شود [۵]. هر چند در این آزمایش تولید پروتئین میکروبی تحت تاثیر مثبت قرار نگرفت ولی کارایی تولید پروتئین میکروبی روند افزایشی داشت (جدول ۶).

علی‌رغم تفاوت در تامین مقدار ماده آلی قابل هضم قابل تخمیر در شکمبه و مصرف نیتروژن، اختلاف معنی داری از لحاظ مقدار پروتئین میکروبی تولید شده بین جیره‌های آزمایشی وجود نداشت ولی مزیت استفاده از ترکیب آهسته رهش در جیره می تواند سبب ذخیره بیشتر نیتروژن قابل تجزیه در شکمبه و دفع کمتر نیتروژن از طریق ادرار (جدول ۵) و افزایش کارایی استفاده از نیتروژن توسط میکروب‌ها باشد (جدول ۶). با توجه به وجود ارتباط معکوس بین تولید اسید های چرب فرار و تولید سلول‌های میکروبی در شکمبه[۱۶]، کاهش تولید اسیدهای چرب فرار بواسطه مصرف ترکیب آهسته رهش ضمن توجیه تغییرات مشاهده شده در pH شیرابه شکمبه، می تواند دلیل دیگری بر بهبود کارایی رشد میکروبی باشد.

عدم تغییر در مقدار تولید اسید های چرب فرار و یا تغییر در درصد مولی اسید های چرب بواسطه استفاده از ترکیبات آهسته رهش نیتروژنه گزارش گردیده است[۱۸ و ۲۴] لیکن در این آزمایش به نظر می رسد که تفاوت معنی دار موجود بین جیره‌های آزمایشی در مقدار ماده آلی قابل هضم قابل

تخمیر در شکمبه می تواند توجیه کننده اصلی اختلافات مشاهده شده در مقدار تولید اسید های چرب فرار باشد. همچنین از جایی که نسبت مولی اسید های چرب فرار می‌تواند منعکس کننده جمعیت میکروبی شکمبه باشد امکان تاثیر ترکیب آهسته رهش بر جمعیت میکروبی شکمبه و افزایش تعداد پروتوزوا که موجب افزایش نسبت اسید بوتیریک می شود می تواند دلیلی بر افزایش نسبت بوتیرات در جیره حاوی ترکیب آهسته رهش باشد[۲۰].

در این آزمایش علیرغم کاهش مصرف نیتروژن توسط دام تغذیه شده با جیره حاوی ترکیب آهسته رهش، مشاهده گردید که مقدار دفع نیتروژن از طریق مدفوع بین جیره های آزمایشی تغییر معنی داری پیدا نکرده است. گزارش شده که دفع نیتروژن مدفوع بیش از اینکه با مصرف نیتروژن ارتباط داشته باشد به مصرف ماده خشک مربوط است[۱۳]از اینرو با توجه به اینکه مصرف ماده خشک بین جیره های آزمایشی اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد می توان انتظار داشت که دفع نیتروژن مدفوع تفاوت معنی داری نداشته باشد. از طرف دیگر ازجایی که مقدار مصرف نیتروژن، تعیین کننده اصلی نیتروژن دفع شده از طریق ادرار بوده و کاهش مصرف نیتروژن باعث کاهش دفع آن بویژه از طریق ادرار می گردد[۷] از اینرو کاهش معنی دار دفع نیتروژن از ادرار در جیره حاوی ترکیب آهسته رهش می تواند به دلیل کاهش مصرف نیتروژن در دامهای تغذیه شده از این جیره باشد

در این آزمایش با توجه به نسبت بالای علوفه به کنسانتره جیره های آزمایشی به نظر می رسد که نیتروژن آمونیاکی محدود کننده قابلیت هضم یا تولید پروتئین میکروبی نبوده و تفاوت موجود بین جیره های آزمایشی از نظر منبع نیتروژن و مقدار مصرف آن، اثر معنی داری بر قابلیت هضم و تولید پروتئین میکروبی نداشت. مشابه این اثر توسط دیگر محققین با بکارگیری اوره آهسته رهش در جیره پر علوفه با کیفیت پایین گزارش گردیده است[۱۴].

با توجه به نتایج اخذ شده، ترکیب آهسته رهش را می توان در صورت نیاز به مقدار بیشتر و به شکل ایمن تری در مقایسه با اوره در جیره دامهای نشخوار کننده مورد استفاده قرار داده و با استفاده از آن از مزایای نیتروژن غیر پروتئینی با خاطری آسوده تر بهره برد.

منابع

1. AOAC(1995) Official method of analysis. 16th ed. Animal Feeds: Association of Official Analytical Chemists;. VA, USA.
2. ARC (1984) The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock, Suppl. No.1, Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough.
3. Broderick G, Stevenson MJ,Patton RA (2009)Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. Journal of dairy science 92(6): 2719-2728.
4. Chen, XB and Gomes MJ (1992) Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives- An overview of the technical details.Rowett Research Institue. University of Aberdeen, UK.
5. Cherdthong A and Wanapat M (2010) Development of urea products as rumen slow-release feed for ruminant production: A review. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 4: 2232-2241.
6. Cottyn BG and Boucque CV (1968)Rapid method for the gas-chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 16(1): 105-107.
7. Dijkstra J,Oenema O,Van Groenigen JW, Spek JW, Van Vuuren AM, Bannink A (2013) Diet effects on urine composition of cattle and N 2 O emissions. Animal.7(s2): 292-302.

8. França AB, Morenz MJF, Lopes FCF, Madeiro AS, Morenz DA, Faria BMD, Cabral LDS, Fonseca CEMD (2012) Bakery waste in sheep diets: intake, digestibility, nitrogen balance and ruminal parameters. Revista Brasileira de Zootecnia. 41(1): 147-153.

9. Givens DI, Owen, E, Omed HM, Axford RFE (2000) Forage evaluation in ruminant nutrition. CABI.

10. Glauser J (2013)Animal feeds.Nonprotein nitrogen(NPN) supplements.chemical economics handbook. HIS chemical.

11. Golombeski G. L, Kalscheur KF, Hippen AR, Schingoethe DJ (2006) Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. Journal of Dairy Science. 89(11): 4395-4403.

12. Highstreet A, Robinson PH, Robison J, Garrett JG (2010) Response of Holstein cows to replacing urea with a slowly rumen released urea in a diet high in soluble crude protein. Livestock Science. 129(1): 179-185.

13. Huhtanen P,Nousiainen JI,Rinne M, Kytölä K, Khalili H (2008)Utilization and partition of dietary nitrogen in dairy cows fed grass silage-based diets." Journal of Dairy Science. 91(9): 3589-3599.

14. Huntington G, Harmon DL, Kristensen Niels Bastian, Hanson KC, Spears JW (2006) Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. Animal Feed Science and Technology. 130(3): 225-241.

15. Johnson R (1976)Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant. Journal of Animal Science. 43(1): 184-191.

16. Leng R. and Nolan J (1984)Nitrogen metabolism in the rumen. Journal of Dairy Science 67(5): 1072-1089.

17. Mathison G, Soofi-Siawash R, Worsley M (1994) The potential of isobutyraldehyde monourea (propanal, 2-methyl-monourea) as a nonprotein nitrogen source for ruminant animals. Canadian Journal of Animal Science 74(4): 665-674.

18. Pinos-Rodríguez JM, Peña Luz Yosahandi, González-Muñoz Sergio S, Bárcena Ricardo, Salem Abd (2010) Effects of a slow-release coated urea product on growth performance and ruminal fermentation in beef steers. Italian Journal of Animal Science 9(1): 4.

19. SAS. 2002. User's Guide: Statistics. Version 9.1.3. SAS Institute. Inc., Cary, USA.

20. Sinclair L,Garnsworthy PC, Newbold JR, Buttery PJ (1993)Effectof synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. Journal ofAgricultural Science-Cambridge- 120: 251-251.

21. VandeHaarMJ and St-Pierre N (2006)Major advances in nutrition: Relevance to the sustainability of the dairy industry. Journal of Dairy Science. 89(4): 1280-1291.

22. Van Soest P, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science. 74(10): 3583-3597.

23. Weakley D and Owens F (1983) Influence of ammonia concentration on microbial protein synthesis in the rumen. OklahomaAgricultural Experiment Station. MP-114 39.

24. Xin H,Schaefer DM, Liu QP, Axe DE, Meng QX (2010) Effects of polyurethane coated urea supplement on *in vitro* ruminal fermentation, ammonia release dynamics and lactating performance of Holstein dairy cows fed a steam-flaked corn-based diet. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 23: 491-500.