اثرات مکمل‌سازی جیره با منابع مختلف اوره بر نرخ آزاد سازی نیتروژن، کینتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و ناپدید شدن مادهٔ مغذی در شرایط برون‌تنی

چکیده

هدف از این آزمایش، بررسی اثرات مکمل‌سازی جیره با منابع مختلف اوره بر نرخ آزادسازی نیتروژن، کنتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و ناپدید شدن مادهٔ مغذی در شرایط برون‌تنی بود. برای این منظور چهار جیره آزمایشی شامل ۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره معمولی؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی؛ ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی تنظیم گردید. انحلال‌پذیری اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*) در آب مقطر، بافر فسفات و بافر مکدوگال- شیرابه شکمبه در سری زمانی ۰، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰، ۳۰۰، ۳۶۰، ۴۲۰ و ۴۸۰ دقیقه توسط روش فتومتریک تعیین شد. کینتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز ۹۶ ساعته و ناپدید شدن مادهٔ مغذی در سری زمانی ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت با استفاده از آزمون تولید گاز اصلاح یافته برآورد شد. نتایج نشان داد انحلال‌پذیری اوره در محلول‌های بافری برای *SRU Lab* نسبت به اپتی‌ژن تجاری، کم و با شیب ملایم بود. اما انحلال‌پذیری اوره در آب مقطر برای *SRU Lab*، مشابه با اپتی‌ژن بود. نتایج تولید گاز ۲۴ ساعته برای جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به جیره حاوی اوره معمولی افزایش معنی‌داری داشت ($P\leq0.001$). ماده آلی تجزیه‌شده برای جیره شاهد و جیره حاوی *SRU Lab* نسبت به جیره حاوی اوره معمولی به‌طور معنی‌دار بیشتر بود ($P\leq0.05$). بیشترین مقدار شاخص بخش‌پذیری برای جیره‌های حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک *SRU Lab* و جیره شاهد بود. بیش از ۵۰ درصد میزان ناپدید شدن مادهٔ خشک جیره‌های آزمایشی بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون رخ داد. گوارش‌پذیری مادهٔ خشک ۲۴ ساعته جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به اوره معمولی به‌صورت معنی‌دار بیشتر بود ($P\leq0.01$). به‌طور معنی‌دار تغییرات گوارش‌پذیری پروتئین خام در ساعات اولیه انکوباسیون تحت تأثیر جیره‌های دارای *SRU Lab* قرار گرفت، اما تغییرات گوارش‌پذیری فیبر نامحلول در شوینده خنثی معنی‌دار نبود ($P\geq0.05$). با گذشت ساعات انکوباسیون، درصد گوارش‌پذیری NDF و CP در جیره حاوی ۰/۴۳ درصد *SRU Lab* نسبت به جیره شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت، اما با افزایش غلظت مصرف *SRU Lab* (جیره چهارم) تغییرات معنی‌دار و زیاد بود ($P\leq0.001$). به‌طور کلی محصول *SRU Lab* از نظر نرخ آزادسازی اوره در انواع محلول‌های بافری نسبت به اپتی‌ژن آهسته‌تر بود. افزودن *SRU Lab* به جیره‌های آزمایشی نسبت به اوره معمولی تاثیر نامطلوبی بر گوارش‌پذیری برون‌تنی مواد مغذی، روند تولید گاز و سایر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده نداشت.

کلیدواژه‌ها: *اوره آهسته رهش، نیتروژن غیر پروتئینی، کینتیک هضم، میزان ناپدید شدن مادهٔ مغذی، تولید گاز*

ABSTRACT

The purpose of this experiment is to evaluate the effects of supplementing the diet with different sources of urea on nitrogen release rate, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in vitro. For this purpose, four experimental rations include 1) ration without urea source [control]; 2) diet containing 0.38% of DM of Uncotaed Urea; 3) ration containing 0.43% DM of *SRU Lab*; 4) The ration containing 0.86% DM of *SRU Lab* was adjusted. To investigate the solubility of slow release urea (*SRU Lab*) in buffer solutions including distilled water and phosphate buffer and McDougall buffer-ruminal fluid in 9 time series 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes was determined by photometric method. Fermentation kinetics, 96-hour gas production parameters, and nutrient disappearance in the time series of 4, 8, 12, 24, 48 hours were estimated using the modified gas production test. The results showed that the solubility of urea in buffer solutions for *SRU Lab* was low and with a gentle slope compared to commercial optigen. But the solubility of urea in distilled water for *SRU Lab* was similar to *Optigen*. The results of 24-hour gas production for diets containing *SRU Lab* increased significantly ($P\leq0.001$) compared to diets containing uncotaed urea. The digested organic matter for the control diet and the diet containing *SRU Lab* was significantly higher than the diet containing uncotaed urea ($P\leq0.05$). The highest amount of PF was for diets containing 0.43% DM of *SRU Lab* and control diet. More than 50% of dry matter disappearance rate of experimental diets occurred after 12 hours of incubation. The 24-hour dry matter digestibility of diets containing *SRU Lab* was significantly higher than uncotaed urea ($P\leq0.01$). Significantly, changes in CP digestibility in the first hours of incubation were affected by diets containing *SRU Lab*, but changes in digestibility of NDF were not significant ($P\geq0.05$). With the passage of incubation hours, the percentage of digestibility of NDF and CP in the diet containing 0.43% of *SRU Lab* compared to the control diet was not significantly different, but with the increase in the concentration of *SRU Lab* (fourth diet) the changes were significant and high ($P\leq0.001$). In general, the *SRU Lab* product was slower than *Optigen* in terms of urea release rate in various buffer solutions. The addition of *SRU Lab* to the experimental diets did not have an adverse effect on the in vitro digestibility of nutrients, gas production trends and other measured parameters compared to uncotaed urea.

Keywords: *slow-release urea, non-protein nitrogen, digestion kinetics, nutrient disappearance rate, gas production technique*

مقدمه

پروتئین جیره نقش مهمی در تأمین اسیدهای آمینه و منبع نیتروژن برای تولید پروتئین میکروبی در شکمبه نشخوارکنندگان دارد. با این حال، پروتئین یک ماده مغذی گران قیمت است و باید یک راهکار مناسب برای کاهش هزینه خوراک بدون تأثیر منفی بر تولید دام در نظر گرفته شود. نیتروژن غیر پروتئینی (NPN)، مانند اوره، به دلیل هزینه کم معمولاً به عنوان جایگزین پروتئین خوراک در جیره نشخوارکنندگان استفاده می‌شود (Zhou *et al.*, 2017). به‌هرحال، اوره به عنوان یک منبع نیتروژن ارزان، ممکن است بازده کمی برای ساخت پروتئین میکروبی داشته باشد چراکه به سرعت توسط اوره‌آزهای باکتریایی شکمبه به آمونیاک هیدرولیز می‌شود و اغلب از ظرفیت استفاده باکتری‌های شکمبه فراتر می‌رود و مازاد آن از دیواره شکمبه جذب خون می‌شود (Salami *et al.*, 2020). از سوی دیگر، همزمان‌سازی تامین نیتروژن با نیازهای میکروبی در شکمبه یک راهکار تغذیه‌ای مهم برای بهبود انرژی و استفاده از نیتروژن است. یک راه برای بهبود همزمان‌سازی نیتروژن با توجه به نیاز میکروب‌های شکمبه، کاهش سرعت آزادسازی اوره به آمونیاک با پوشش دادن اوره توسط مواد ماتریکسی است که قادر به محافظت از آن‌ها در برابر تجزیه سریع است (Taylor-Edwards *et al.*, 2009). برای دستیابی به این هدف، تعدادی از محصولات اوره محافظت‌شده از شکمبه، مانند اوره پوشش داده‌شده با روغن، کلسیم، و یا مواد پلیمری ساخته‌شده است (Guo *et al.*, 2022). اگرچه مطالعات متعددی، اثرات مثبت استفاده از اوره آهسته رهش در جیره نشخوارکنندگان برای بهبود جذب آمونیاک در شکمبه را آزمایش کرده‌اند، اما نتایج به طور قابل‌توجهی متغیر بوده است (Xin *et al.*, 2010؛ Alves *et al.*, 2014؛ Yan *et al.*, 2018). بازدۀ اوره آهسته رهش احتمالاً به سرعت آزادسازی اوره، مقدار گنجاندن، نوع جیره، جمعیت میکروبی شکمبه، و شرایط محیطی میزبان، مانند جذب NH3 شکمبه و سرعت عبور مایع و جامد بستگی دارد (Alves *et al.*, 2014).

اوره آهسته رهش در درجه اول به عنوان یک منبع نیتروژن سهل الوصول به همراه انرژی قابل تخمیر برای حمایت از تولید پروتئین میکروبی در نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد، بنابراین افزودن آن در جیره نه تنها برای تامین منبع N در شکمبه، بلکه در تنوع و جمعیت میکروبی شکمبه‌ای نیز اهمیت دارد (Guo *et al.*, 2022). Alipour و همکاران (۲۰۲۰) با افزودن محصول اوره آهسته رهش در یک جیره دارای نشاسته زیاد، بهبود فعالیت باکتری‌های فیبرولیتیک را نسبت به جیره حاوی اوره معمولی گزارش کردند. Ferme و همکاران (۲۰۰۴) با مهار باکتری‌های عمدۀ تولیدکننده آمونیاک مانند *Prevotella ruminantium* و *Prevotella bryantii* کاهش غلظت NH3-N را در محیط کشت مداوم نشان دادند. علاوه بر این، چندین مطالعه گزارش کردند که غلظت کم (۱ درصد) نسبت به غلظت زیاد (۲ درصد) اوره آهسته رهش در جیره منجر به بهبود عملکرد رشد گاومیش‌ها شده است (Yan *et al.*, 2018). در شرایط آزمایشگاهی، گوارش‌پذیری جیره حاوی غلات زیاد با سطوح ۰/۵ و ۱ درصد نسبت به ۱/۷۵ درصد اوره آهسته رهش بیشتر بود (Alipour *et al.*, 2020). در حالی که، Tedeschi و همکاران (۲۰۰۲) هنگامی که از یک محصول اوره محافظت‌شده با سطوح پیشنهادی ۵۰ و ۱۰۰ گرم در روز به ازای هر رأس جهت تأمین نیتروژن شکمبه‌ای در جیره گاوهای پرواری استفاده کردند بهبودی در عملکرد رشد و پروار مشاهده نکردند. نتایج ارائه‌شده توسط محققان مختلف نشان می‌دهد که برای مشخص کردن اثرات مثبت افزودن اوره آهسته رهش در جیره گاوهای شیری بر جمعیت میکروبی شکمبه و پروتوزوآها سازوکارهای زیادی دخیل است، زیرا درک بهتر از تاثیر مصرف اوره آهسته رهش بر فلور میکروبی شکمبه بسیار کمیاب است (Guo *et al.*, 2022، Yan *et al.*, 2018).

علاوه بر این، کنجاله سویا یکی از منابع مهم پروتئین است که در جیره گاوهای شیری به وفور مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای اسیدهای آمینه قابل دسترس و متوازن خوبی برای حیوان میزبان و میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشد (Chalupa, 2007). با توجه به تغییرات قیمت کنجاله دانه‌های روغنی در ایران و سوالات متعدد تولیدکنندگان در مورد سطح

عملکردی بهینه اقتصادی کنجاله دانه‌های روغنی (کنجاله سویا) در جیره، به نظر می‌رسد بررسی و مقایسه نرخ آزادسازی اوره آهسته رهش و نیز درک بهتر از فراسنجه‌های تخمیر و قابلیت هضم در شرایط برون‌تنی بتواند در جهت بهبود تصمیم‌گیری مدیریت تغذیه و اقتصاد تولید (با توجه به هزینه‌های بالای خوراک) موثر و مفید واقع شود. بنابراین، استفاده از یک منبع جایگزین ارزان مانند نیتروژن غیر پروتئینی در جیره گاوها به دلیل هزینه کم آن جذاب خواهد بود (Guo *et al*., 2022). با این حال، خطرات جایگزینی منابع پروتئین گیاهی با اوره آهسته رهش در جیره نامشخص است. فرض بر این است با مصرف زیاد اوره آهسته رهش یا جایگزینی آن به عنوان بخشی از کنجاله پروتئینی سویا در جیره گاوهای شیری به دلیل بهبود استفاده از نیتروژن میکروبی از طریق انتشار آهسته آمونیاک و افزایش بازده تولید میکروبی، شرایط تخمیر و ترکیب جمعیت میکروبی شکمبه تحت تاثیر قرار می‌گیرد. امروزه به دلیل گران بودن نهاده‌ها، افزایش پروتئین خام جیره با استفاده از مکمل‌های پروتئینی (مانند: دانه‌های روغنی) هزینه تمام‌شده جیره را تحت تأثیر قرار خواهد داد. بنابراین، به نظر می‌رسد با فرمولاسیون جیره‌هایی با سطوح کمتر پروتئین قابل متابولیسم (چه از منابع RDP و چه از منابع RUP) و جایگزینی آن با مقادیر کمی از نیتروژن غیر پروتئینی پوشش‌دار، بتوان بخشی از پروتئین مازاد جیره را حذف کرد یا بهتر کنترل نمود و یا از این طریق، فضای بیشتری را برای گنجاندن مکمل‌های انرژی (منابع چربی) و یا منابع کنسانتره‌ای و یا علوفه‌ای (به‌ویژه سیلاژ ذرت) در جیره فراهم کرد. از طرفی انتظار می‌رود که با مکمل سازی جیره‌های فقیر از پروتئین قابل متابولیسم با نیتروژن غیر پروتئینی پوشش‌دار بتوان بازده تولید و تولیدمثلی حیوان را افزایش داد و اتلاف نیتروژن به محیط‌زیست را کاهش داد. در این تحقیق، فرض شد که پوشش‌دار کردن اوره و ایجاد یک محصول جدید بتواند، تولید گاز و فراسنجه‌های تخمیری را تحت تاثیر قرار دهد. به این منظور در دو بخش مجزا ۱- بررسی نرخ آزادسازی نیتروژن در زمان‌های مختلف انکوباسیون؛ و ۲- اثرات مکمل‌سازی جیره با سطوح مختلف یک فرآورده اوره آهسته رهش بر کینتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و میزان ناپدید شدن مادهٔ مغذی در شرایط برون‌تنی[1] مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تولید اوره آهسته‌رهش

ساخت ترکیب اوره آهسته رهش با متصل نمودن ترکیبات معدنی (کربنات کلسیم، کلرید کلسیم و گوگرد) و آلی (مانند: اسید استئاریک، ملاس، کربوکسی متیل سلولز) به ماده زمینه‌ای (یعنی اوره) با استفاده از روش اکستروژن بهینه‌شده با دمای ۷۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Yamamoto *et al*., 2016). برای تشکیل ماتریکس کربوکسی متیل سلولز، از روش پلیمریزاسیون در محل[2] با حضور کاتالیزور اسیدی (سود ۳۰ درصد) استفاده شد (Beig *et al*., 2020). سپس توسط یک دستگاه پن کوتینگ (ابعاد ۵۰ ×۴۰ سانتی‌متر) به شکل گرانول تولید شد. محصول اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*) دارای ۳۹/۱ درصد نیتروژن، ۷ درصد چربی گیاهی، ۶ درصد ترکیب معدنی و ۲ درصد سایر ترکیبات بود.

اندازه‌گیری نرخ آزادسازی اوره

قبل از اجرای آزمایش‌های هضمی و تولید گاز، محصول ابداعی از نظر آهسته رهش بودن و انحلال‌پذیری مورد سنجش قرار گرفت (Tang *et al*., 2007). برای این منظور، نرخ آزادسازی محصول *SRU Lab* با محصول تجاری اپتی‌ژن[3] (دارای ۴۱ درصد نیتروژن و ۱۲-۱۱ درصد چربی گیاهی) در شرایط برون‌تنی بررسی و مقایسه شد. برای اندازه‌گیری میزان انحلال‌پذیری اوره از ۱- آب مقطر، ۲- بافر فسفات (۵۰ میلی‌لیتر محلول پتاسیم فسفات مونوبازیک ۰/۲ مولار به ۲۲/۴ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۲ مولار؛ USP, 2014) و ۳- بزاق مصنوعی (MacDougall, 1948) به همراه مایع شکمبه (با نسبت ۲ به ۱ در انکوباسیون شیکردار با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد و با ۶۵ دور در دقیقه) به دلیل سازگاری با pH

[1]-*Invitro*
[2]-In situ Polymerization
[3]-*Optigen*

ایزوالکتریک و آمفوتر بودن محلول‌های یادشده استفاده گردید. به این منظور، مقدار ۱ گرم اوره آهسته رهش در ویال‌های ۱۲۰ سی‌سی همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع موردنظر انکوبه شدند. سپس مقدار ۱ سی‌سی نمونه از ویال‌های انکوبه شده در زمان‌های مشخص جمع‌آوری شد و برای نگهداری داخل میکروتیوب‌های ۲ سی‌سی ریخته شدند و در دمای ۱۲- درجه سانتی‌گراد سریعاً منجمد گردید. میزان انحلال‌پذیری اوره در یک سری با ۹ زمان صفر، ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰، ۲۴۰، ۳۰۰، ۳۶۰، ۴۲۰ و ۴۸۰ دقیقه با استفاده از روش نورسنجی و کیت پارس آزمون (UREA UV) و دستگاه آنالایزر alcyon 300 (Knorst *et* al., 1997) در مرکز تحقیق و توسعه دانشگاه علوم پزشکی تبریز تعیین شد و برای نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش پیشنهادی Broderick و Kang (۱۹۸۰) مورد سنجش قرار گرفت.

جیره‌های آزمایشی

برای این آزمایش ابتدا یک جیره کاملاً مخلوط (TMR) توسط نرم‌افزار CPMDairy (نسخه 3.0.8.01) برای گاوهای شیرده (۶۸۰ کیلوگرم وزن بدن) با تعداد روزهای شیردهی ۷۰ روز و مقدار ۴۵ کیلوگرم تولید شیر فرموله شد (جدول ۱). جیره‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند، سپس توسط آسیاب مجهز به الک ۱ میلی‌متری آسیاب شدند (Trei et al., 1970) و به عنوان نمونه خوراک در انکوباسیون برون‌تنی مورد استفاده قرار گرفتند. چهار جیره آزمایشی حاوی نیتروژن و انرژی برابر فرموله شدند که عبارتند از: ۱) جیره بدون منبع اوره (شاهد)؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره بدون پوشش‌دار؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره پوشش‌دار؛ و ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره پوشش‌دار. تجزیه شیمیایی جیره‌های غذایی با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

مادهٔ خوراکی	جیره‌های آزمایشی*			
	کنترل	۱	۲	۳
اجزای جیره‌ها براساس درصد مادهٔ خشک				
سیلاژ ذرت	۲۳/۲۷	۲۳/۷۲	۲۳/۵۲	۲۴/۰۶
یونجه	۱۵/۸۷	۱۵/۵۹	۱۵/۴۶	۱۵/۸۲
کاه گندم	۲/۱۶	۲/۱۳	۲/۱۱	۲/۱۶
ذرت خردشده	۱۷/۲۴	۱۶/۹۴	۱۶/۸۰	۱۶/۸۵
جو خردشده	۷/۹۳	۷/۷۹	۷/۷۳	۹/۹۷
سبوس گندم	۶/۹۵	۹/۵۷	۹/۴۹	۹/۷۱
کنجاله پنبه دانه	۷/۲۱	۷/۱۰	۷/۰۲	۴/۳۱
کنجاله سویا	۱۰/۴۷	۱۰/۲۷	۱۰/۱۲	۹/۹۵
کنجاله کلزا	۶/۳۶	۳/۹۹	۴/۸۲	۳/۵۲
پودر چربی	۰/۹۵	۰/۹۴	۰/۹۳	۱/۱۴
دی کلسیم فسفات	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲
بی‌کربنات سدیم	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۸
مواد معدنی و ویتامینه**	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵
اکسید منیزیم	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲
زرین بایندر (بنتونیت)	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹
نمک	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴
اوره معمولی (۲۸۱ درصد CP)	۰	۰/۳۸	۰	۰
اوره آهسته رهش (۲۴۴ درصد CP)	۰	۰	۰/۴۳	۰/۸۶
تجزیه شیمیایی (درصد مادهٔ خشک)				
مادهٔ خشک	۵۲/۲۴	۵۲/۳۰	۵۲/۲۶	۵۲/۱۹
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم)	۱/۷۱	۱/۷۱	۱/۷۱	۱/۷۱

ویراستاری نشده

پروتئین خام	۱۷/۴۵	۱۷/۴۶	۱۷/۴۷	۱۷/۴۸
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۲/۱۰	۳۲/۵۵	۳۲/۵۶	۳۲/۴۸
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۱۹/۰۷	۱۹/۰۰	۱۹/۰۰	۱۸/۶۹
نشاسته	۲۶/۷۲	۲۶/۸۵	۲۶/۷۲	۲۷/۹۸
خاکستر	۷/۱۳	۶/۳۵	۶/۴۱	۵/۶۵

†: جیره آزمایشی شامل ۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره معمولی؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی؛ ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی. **: مکمل معدنی و ویتامینی: کلسیم: ۱۷۰ گرم، فسفر ۶۰ گرم، منیزیم: ۱۰۰ گرم، منگنز: ۱۳۰۰۰ میلی‌گرم، مس: ۵۰۰۰ میلی‌گرم، آهن: ۴۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت: ۸۰ میلی‌گرم، سلنیوم: ۱۱۰ میلی‌گرم، ید: ۲۰۰ میلی‌گرم، ویتامین A: ۱,۲۵۰,۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D_3: ۳۰۰,۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی.

اندازه‌گیری تولید گاز

اندازه‌گیری میزان تولید گاز با استفاده از روش Fedorah و Hrudey (۱۹۸۳) در آزمایشگاه تغذیه پیشرفته گروه علوم دامی دانشگاه تهران انجام شد. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از جیره‌های کاملاً مخلوط آسیاب شده با الک ۱ میلی‌متری توزین و داخل ویال‌های مخصوص ۱۲۰ میلی‌لیتری استریل ریخته شد. تعداد ۸ تکرار به ازای هر تیمار، برای سری زمان‌های انکوباسیون در نظر گرفته شد. نمونه شیرابه شکمبه از ۳ رأس گاو شیری هلشتاین مزرعه تحقیقاتی محمد شهر کرج دانشگاه تهران با وزن بدن ۳۰±۵۸۰ کیلوگرم و شکم زایش ۲، ۳ و ۴ که با جیره کاملاً مخلوط (نسبت علوفه به کنسانتره ۶۰:۴۰) به مدت ۱۰ روز تغذیه‌شده بودند، جمع‌آوری و با پارچه متقال ۴ لایه‌ای صاف و در فلاسک محتوی گاز کربنیک سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی طبق روش *مکدوگال*[1] (۱۹۴۸) به نسبت (۱ به ۲) تهیه شد. جهت جلوگیری از تخمیر هوازی و کاهش دمای شیرابه، گاز کربنیک به داخل مخلوط تزریق و در روی همزن دارای سیستم گرمایشی با دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس در هر شیشه (ویال) حاوی نمونه، مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از مخلوط شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی ریخته شد و پس از تزریق گاز کربنیک و بی‌هوازی نمودن محیط داخل شیشه (ویال) با استفاده از درپوش لاستیکی و سیلک آلومینیومی درب آن محکم بسته شد و در دستگاه انکوباتور شیکردار در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد با ۶۵ دور در دقیقه قرار برای زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرار داده شد. به‌منظور تصحیح مواد خوراکی، تخمیر و تولید گاز با منشاء شیرابه شکمبه در هر دوره انکوباسیون، هشت شیشه (ویال) که تنها حاوی ۲۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی به‌عنوان نمونه بلانک استفاده شدند.

مقدار گاز تولیدی ناشی از تخمیر ماده غذایی مورد آزمایش به روش فدوراک (جابجایی آب مایع) قرائت و ثبت گردید (Fedorah & Hrudey, 1983). تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به فراسنجه‌های کنیتیک تولید گاز توسط معادله پیشنهادی Ørskov و McDonald (۱۹۷۹) و با استفاده از رویه NLIN و نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و Fitcurve برآورد شد (رابطه ۱).

$$GP = A\ [1\text{-}e^{\{-c(T\text{-}Lag)\}}] \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

GP: گاز تولیدی تجمعی در زمان t؛ A: پتانسیل تولید گاز بر حسب میلی‌لیتر بر گرم مادهٔ خشک؛ C: ثابت نرخ تولید گاز در واحد زمان؛ Lag: زمان تاخیر؛ و t مدت زمان انکوباسیون (ساعت) و e عدد ثابت نپرین (۲/۷۱۸) می‌باشد.

شاخص *بخش‌پذیری*[2] جیره‌های آزمایشی بر اساس روش Blümmel و همکاران، (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد. این شاخص بیان‌کننده نسبت میلی‌گرم مادهٔ آلی تجزیه‌شده به میلی‌لیتر حجم گاز تولیدشده در واحد زمانی ۱/۲ انکوباسیون می‌باشد (Blümmel *et al.*, 1997). پس از اتمام زمان انکوباسیون، کل محتوای ویال‌ها به درون ظرف ۵۰۰ میلی‌لیتری منتقل و ۱۰۰ سی‌سی محلول شوینده خنثی NDS (pH=۷/۴) اضافه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه جوشانده شد. در ادامه محتوای باقیمانده نمونه‌ها را داخل بوته‌های مخصوص ریخته و به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک گردیدند و در نهایت توزین شدند. برای اندازه‌گیری خاکستر، نمونه‌های باقیمانده به مدت ۴ ساعت به کوره الکتریکی (۵۵۰

[1]-McDougall
[2]-*Partitioning factor* (PF)

درجه سانتی‌گراد) انتقال یافتند. بعد از گذشت این زمان، بوته‌های خاکستر به دسیکاتور منتقل شدند و پس از خنک شدن کامل، به‌دقت توزین شدند. در نهایت برای محاسبه شاخص بخش‌پذیری از روابط (۲) و (۳) استفاده گردید:

رابطه ۲) [خاکستر – باقیمانده – مقدار اولیه] = ماده آلی هضم شده حقیقی (میلی‌گرم)

رابطه ۳) $$\text{شاخص بخش‌پذیری} = \frac{\text{میلی‌گرم ماده آلی حقیقی هضم شده}}{\text{میلی‌لیتر گاز تولیدشده}}$$

تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی بر اساس روش Blümmel و Bullerdieck (۱۹۹۷) و با استفاده از روابط (۴) و (۵) محاسبه گردید.

رابطه (۴): $$MBP = [TDOM - (\text{gas at } t_{1/2} \times SF)]$$

در رابطه بالا، MBP: تولید توده میکروبی، TDOM: ماده آلی هضم شده حقیقی، gas at $t_{1/2}$: مقدار گاز تولید شده در زمان ۱/۲، SF: که فاکتور ثابت که برای مواد خشبی ۲/۲ و برای مواد کنسانتره‌ای ۲/۳۴ در نظر گرفته می‌شود.

رابطه (۵): $$EMBS = (MBP/TDOM) \times 100$$

EMPS: بازده تولید توده میکروبی، MBP: تولید توده میکروبی بر حسب میلی‌گرم، TDOM: ماده آلی واقعاً هضم شده بر حسب میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشند.

اندازه‌گیری میزان ناپدید شدن ماده مغذی

به منظور بررسی اثرات محصول *SRU Lab* بر گوارش‌پذیری مادهٔ خشک، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی، با استفاده از یک روش برون‌تنی اصلاح یافته توسط Parnian-Khajehdizaj و همکاران (۲۰۱۸) مشابه تکنیک اندازه‌گیری تولید گاز انجام شد. جیره کاملاً مخلوط تهیه‌شده برای هر چهار تیمار به مقدار ۵۰۰ میلی‌گرم توزین و در کیسه‌های پلی‌استر (با اندازه منافذ ۴۵ میکرومتر) با ابعاد ۲×۵×۳ سانتی‌متر ریخته و درب کیسه‌ها توسط پرس حرارتی مهر و موم گردید. کیسه‌های حاوی ماده خوراکی مورد آزمایش در داخل شیشه‌های ۱۲۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس شیشه (ویال)ها در داخل انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد. برای اندازه‌گیری گوارش‌پذیری مادهٔ مغذی هر تیمار در هر دوره زمانی ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت تعداد ۱۰ تکرار در نظر گرفته شد. به‌منظور تصحیح گوارش‌پذیری با منشاء شیرابه شکمبه برای هر دوره زمانی انکوباسیون تعداد ۱۰ شیشه (مجموعاً ۵۰ عدد ویال) به عنوان بلانک استفاده شدند. برای حذف اثر گاز تولیدشده روی گوارش‌پذیری مادهٔ مغذی در داخل شیشه‌ها در مدت زمان انکوباسیون روی درپوش‌های لاستیکی شیشه‌ها سر سوزن نصب‌شده بود. در پایان هر دوره انکوباسیون، شیشه‌های مربوطه به همراه شیشه‌های بلانک آن دوره برداشته‌شده و کیسه‌های داخل شیشه‌ها تخلیه شدند، برای اطمینان از حذف هرگونه آلودگی میکروبی توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه، کیسه‌های تخلیه‌شده با بافر فسفات (pH 7.4) مطابق با روش Parnian-Khajehdizaj و همکاران، (۲۰۱۴) شستشو گردید. همچنین برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرّار و نیتروژن آمونیاکی از هر تیمار مقدار ۱۰ میلی‌لیتر به‌طور جداگانه توسط فالکون ۱۵ سی‌سی جمع‌آوری و برای ثابت نگه‌داشتن فعالیت میکروبی و رشد قارچ، مقدار ۱ سی‌سی اسید متافسفریک ۲۵ درصد تزریق و سپس در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد فریز شدند. در نهایت کیسه‌های شستشو شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت داخل آون خشک و سپس توزین شدند. جهت اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرّار، ابتدا لوله‌های حاوی شیرابه به مدت ۱۵ دقیقه با ۳۵۰۰ دور بر ثانیه سانتریفیوژ

شدند؛ سپس ۴۰۰ میکرولیتر از مایع رویی آن برداشته شد، در ادامه مقدار ۱۰۰ میکرولیتر استاندارد داخلی (۴-متیل والریک اسید) به آن‌ها اضافه گردید، در نهایت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرّار نمونه‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۲ متر × ۴۵ میلی‌متر) فیلیپس مدل PU4410 انجام شد (Ottenstein *et al*., 1971). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مقدار۴۰ میکرولیتر از شیرابه به همراه ۴۰ میکرولیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فنول به داخل لوله‌های آزمایشی اضافه شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول آلکالین هایپوکلریت به لوله‌ها اضافه و ورتکس شدند. سپس لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. ۳۰۰ میکرولیتر از محلول داخل لوله به سل‌های دستگاه جذب نوری انتقال داده شد و در طول ۵۵۰ نانومتر، میزان جذب اندازه‌گیری شد. در نهایت مقدار نیتروژن آمونیاکی شکمبه محاسبه شد (Broderick and Kang, 1980). داده‌های نمونه خوراک باقیمانده برای اندازه‌گیری میزان ناپدید شدن پروتئین خام (کجلدال، AOAC) و فیبر شوینده خنثی (ون سوست، ۱۹۹۱) تجزیه و گوارش‌پذیری مادهٔ مغذی پروتئین خام و فیبر شوینده خنثی در شرایط آزمایشگاهی (IVBCD)[1] به صورت رابطه (۶) محاسبه گردید:

رابطه ۶)
$$IVBCD = \frac{\{[(\text{درصد ماده مغذی خوراک باقیمانده}) \times (\text{گرم خوراک باقیمانده})] - [(\text{درصد ماده مغذی جیره کاملاً مخلوط}) \times (\text{گرم جیره کاملاً مخلوط})]\}}{[(\text{درصد ماده مغذی جیره کاملاً مخلوط}) \times (\text{گرم جیره کاملاً مخلوط})]}$$

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به میزان انحلال‌پذیری اوره در زمان‌های مختلف، فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری و تولید گاز با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و رویهٔ GLM نرم‌افزار آماری SAS (۲۰۰۳) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (رابطه ۷):

رابطه (۷):
$$Y_i=\mu+T_i+e_i$$

این مدل شامل متغیر وابسته (Y_i)؛ میانگین کل مشاهدات (μ)؛ اثر تیمار (T_i)؛ اثر اشتباه آزمایشی (e_i) بود. مقایسه میانگین‌ها در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درصد و با آزمون توکی انجام شد.

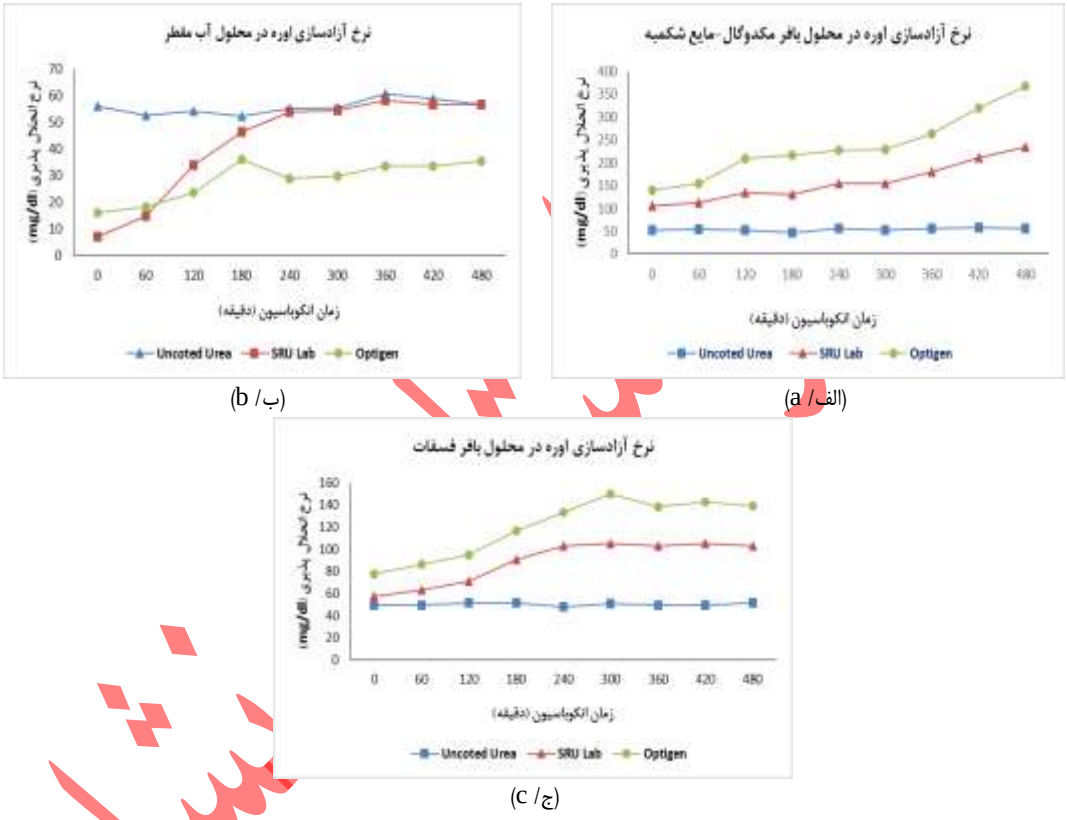
نتایج و بحث

با توجه به شکل (۱) نرخ انحلال‌پذیری اوره در محلول مکدوگال و بافر فسفات برای اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*) نسبت به اپتی‌ژن در طی زمان انکوباسیون کم و با شیب ملایم بود. در محلول آب مقطر انحلال‌پذیری *SRU Lab* مشابه با اپتی‌ژن بود. محصول *SRU Lab* کنیتیک انحلال‌پذیری آهسته‌تری در کشت ثابت مایع شکمبه بافری شده و بافر فسفات نسبت به اپتی‌ژن نشان داد ($P\leq0.05$) و این کاهش میزان آزادسازی می‌تواند باعث افزایش بازدهٔ تولید پروتئین میکروبی، کاهش مسمومیت آمونیاکی و افزایش درصد مصرف NPN در جیره نشخوارکنندگان شود. در سال ۲۰۰۵، شرکت Alltech (لکسینگتون، KY) محصول اپتی‌ژن را تولید و تجاری کرد که شامل پوشش اوره با بخش آلی چربی گیاهی و بخش معدنی آلومینیوم سیلیکات بود. میزان ناپدید شدن نیتروژن با استفاده از کیسه‌گذاری برای اوره آهسته رهش ۰/۲۳۷ در ساعت بود. García-González و همکاران (۲۰۰۷) نتیجه گرفتند که اپتی‌ژن منبع کاملاً محافظت‌شده از NPN با خصوصیات کنترل‌شده در شکمبه است که با گزارش Stewart و همکاران، (۲۰۰۸) مطابقت دارد. عملکرد بیشتر نیتروژن میکروبی برای اپتی‌ژن نسبت به اوره‌های بدون پوشش در کشت مداوم شکمبه‌ای در برخی از موارد گزارش‌شده است (Chalupa, 2007; Tikofsky & Harrison, 2007).

در اکثر گزارش‌ها اثرات سودمند محصولات اوره پیوند شده با کلراید کلسیم (Huntington *et al*., 2006) و اوره-سولفات کلسیم (Cherdthong *et al*., 2011) بر تخمیر شکمبه‌ای اشاره‌شده است. Galo و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند

[1]-*InVitro* Batch Culture Digestibility (IVBCD)

در شرایط آزمایشگاهی، اوره پوشش‌دار شده با پلی‌مر نسبت به اوره معمولی بسیار آهسته‌تر به آمونیاک تجزیه می‌شود. Golombeski و همکاران (۲۰۰۶) عنوان کردند اوره آهسته رهش (SRU) نیتروژن را در شکمبه به تدریج آزاد می‌کند، داشتن ویژگی آهسته رهش برای محصولات شیمیایی مانند اوره در جیره‌های غذایی، سبب بهبود بازده استفاده نیتروژن توسط میکروارگانیسم‌ها و نیز عدم ایجاد خطر انباشته شدن اوره و آمونیاک در شکمبه می‌شود. Chegeni و همکاران (۲۰۱۳) در یک مطالعه برون‌تنی مشاهده کردند که ترکیب اوره _ کلسیم، آزادسازی نیتروژن آمونیاکی منظم‌تری نسبت به اوره معمولی دارد و همزمان‌سازی بین انتشار آمونیاک شکمبه‌ای و کربوهیدرات در دسترس را بهبود می‌بخشد و در نتیجه منجر به افزایش ساخت پروتئین میکروبی می‌شود (Mazinani *et al.*, 2019).



شکل ۱. انحلال‌پذیری منابع مختلف اوره در (الف) محلول مایع شکمبه + بزاق مصنوعی؛ (ب) محلول آب مقطر؛ و (ج) محلول بافر فسفات (P≤0.05)

داده‌های مربوط به تولید گاز حاصل از تخمیر، در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت انکوباسیون و نیز فراسنجه‌های تولید گاز در جدول (۲) ارائه‌شده است. در زمان‌های ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد (P≥0.05) که می‌تواند ناشی از تأخیر در اتصال میکروارگانیسم‌ها به سوبسترا و رقابت بین جمعیت میکروبی در این اتصال باشد. مقدار گاز تولیدی در زمان‌های اول انکوباسیون (تا ۸ ساعت) در تیمار دارای اوره معمولی نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود (P≤0.05). در واقع گازی که طی ساعات اولیه انکوباسیون تولید می‌شود مربوط به گاز تولیدی مرتبط با بخش محلول می‌باشد و آنچه در این مطالعه به‌دست آمد، این است که اوره معمولی حاوی نیتروژن آزاد زیادی می‌باشد و به افزایش تخمیر میکروبی کمک می‌نماید. در راستای مطالعه‌ی حاضر، گزارش‌شده است در زمان‌های اولیه به علت تجزیه سریع اوره به آمونیاک و در دسترس بودن نیتروژن آزاد برای میکروارگانیسم‌های موجود در محیط کشت، سرعت تخمیر مواد مغذی زیاد بوده و حجم گاز تولیدی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Phesatcha & Wanapat, 2016). در زمان ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون حجم گاز تولیدی برای جیره‌های حاوی سطوح مختلف *SRU* نسبت به جیره حاوی اوره معمولی به‌طور معنی‌دار روند افزایشی داشت (P≤0.001). *Lab*

داده‌های فراسنجه‌های تولید گاز (جدول ۲) نشان داد که بیشترین نرخ تولید گاز برای جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک *SRU Lab* (۰/۰۶۲ در ساعت، P≤0.001) و کمترین آن برای جیره حاوی اوره معمولی (۰/۰۴۸ در ساعت، P≤0.01) بود. پتانسیل تولید گاز همانند جیره شاهد برای جیره حاوی *SRU Lab* نسبت به اوره معمولی بیشتر بود (P≤0.01). اوره بدون پوشش‌دار به سرعت توسط اوره‌آزهای باکتریایی موجود در شیرابه به آمونیاک و CO_2 هیدرولیز می‌شوند و مقدار گاز تولیدی در ویال‌های انکوبه شده را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Gonçalves *et al.*, 2015). همسو با نتایج مطالعه حاضر، گزارش‌های قبلی نیز تأکید کردند که افزایش غلظت آمونیاک در اثر تجزیه اوره منجر به کاهش نرخ تجزیه‌پذیری ماده خوراکی به واسطه تأثیر منفی روی باکتری‌های شکمبه و نیز اشباع شدن آمونیاک در محیط می‌گردد (Highstreet *et al.*, 2010؛ Gonçalves *et al.*, 2015؛ Ceconi *et al.*, 2015). آمونیاک آزادشده ناشی از تخمیر، همراهی اندکی در تولید گاز دارد، زیرا بخشی از آن در خنثی‌سازی اسیدهای چرب فرار مصرف می‌شود (Cherdthong & Wanapat, 2014). منشأ اصلی گاز تولیدی ناشی از تبدیل کربوهیدراتها به استات، پروپیونات و بوتیرات می‌باشد که در این میان، تبدیل کربوهیدرات به استات و بوتیرات نقش مهم‌تری در میزان گاز تولیدی دارد (Blümmel and Ørskov, 1993). این موضوع نشان می‌دهد که همزمانی بین انرژی سهل‌الهضم و نیتروژن تجزیه‌پذیر در شکمبه تأثیر مهمی در سنتز پروتئین میکروبی دارد و از هدر رفت نیتروژن به شکل آمونیاک جلوگیری می‌کند (Cherdthong & Wanapat, 2014). و *SRU Lab* تولیدشده در این آزمایش به‌خوبی عمل رهاسازی اوره را انجام می‌دهد.

در مطالعه حاضر مقدار ماده آلی تجزیه‌شده برای تیمارهای موردبررسی در زمان $T_{1/2}$ برای جیره حاوی ۰/۴۳ درصد *SRU Lab* همانند تیمار شاهد نسبت به جیره حاوی اوره معمولی به طور معنی‌دار بیشتر بود (P≤0.001). بیشترین مقدار شاخص بخش‌پذیری (PF) مربوط به جیره حاوی ۰/۴۳ درصد *SRU Lab* و جیره شاهد بود (P≤0.001). PF می‌تواند اطلاعاتی در مورد اینکه چه مقدار از خوراک تخمیر شده به تولید اسیدهای چرب فرار و گازهای دفعی (عمدتاً دی‌اکسید کربن و متان) اختصاص‌یافته و چه مقدار آن صرف تولید توده میکروبی شده است، ارائه نماید (Blümmel *et al.*, 1997). PF پایین‌تر، حاکی از این است که ماده آلی تجزیه‌شده بیشتر به سمت تولید اسیدهای چرب فرار سوق پیدا کرده است تا تولید توده میکروبی (Blümmel *et al.*, 1997). در این آزمایش زمانی که سطح استفاده *SRU Lab* افزایش یافت (۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک)، مقدار PF نسبت به جیره شاهد کاهش یافت (P≤0.01). علت این امر می‌تواند اثر پوشش‌دار کردن اوره روی همزمانی انرژی و پروتئین باشد. همزمانی بین نیتروژن از منابع NPN و کربوهیدرات سهل‌الهضم تأثیر زیادی روی محصول پروتئین میکروبی دارد (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2018). براساس گزارش‌های قبلی، در صورت عدم همزمانی بین منابع نیتروژن قابل تجزیه در شکمبه با کربوهیدرات‌های سهل‌الهضم، علاوه بر کاهش تولید پروتئین میکروبی، میزان هضم فیبر نیز کاهش خواهد یافت (Azizi-Shotorkhoft *et al.*, 2018؛ Mazinani *et al.*, 2019). در تحقیق حاضر مقادیر PF در محدوده ۳/۴۳ تا ۴/۳۲ و در دامنه تئوری اعلام‌شده توسط Blümmel و همکاران (۱۹۹۷) قرار داشت. این محققین بیان نمودند که PF خوراک‌ها از ۲/۷۵ تا ۴/۴۱ متغیر است که این محدوده منعکس‌کننده تولید ۱۰ تا ۳۲ مول ATP، به ازای تخمیر هر مول گلوکز می‌باشد که مقدار ۳۲ مول ATP به عنوان حداکثر بازدهی تولید توده میکروبی مطرح‌شده است (Blümmel *et al.*, 1997). حداکثر بازده تولید پروتئین میکروبی از خوراک تخمیر شده در شکمبه به عنوان یک اصل در تغذیه نشخوارکنندگان پذیرفته‌شده است، به‌طوری‌که افزایش بازده پروتئین میکروبی منجر به افزایش ترکیباتِ نیتروژنی از شکمبه به روده باریک می‌شود [طبق گفته NRC در سال ۱۹۹۲ غالباً بیش از نیمی از اسیدهای آمینه جذب‌شده توسط روده باریک در نشخوارکنندگان، از پروتئین میکروبی به دست می‌آید] بعلاوه از اتلاف کربن خوراک به فرم گازهای تخمیری جلوگیری می‌کند (Anele *et al.*, 2011؛ Azizi *et* al., 2019).

تولید توده میکروبی و بازده تولید توده میکروبی برای جیره حاوی ۰/۴۳ درصد *SRU Lab* نسبت به تیمار شاهد و سایر تیمارهای آزمایشی بیشتر بود (P≤0.001). همچنین با افزایش سطح اوره آهسته رهش (۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک) تاثیر منفی بر بازده تولید پروتئین میکروبی داشت (P≤0.01). بیانگر این واقعیت است که سطوح بالای پروتئین قابل تجزیه نه تنها به افزایش بازدهی تولید توده میکروبی منجر نمی‌شود بلکه باعث اتلاف مقادیر بیشتری از مواد مغذی خوراک در قالب گازهای دفعی و در نتیجه کاهش PF می‌گردد. در این مطالعه، کاهش تولید توده میکروبی در جیره حاوی اوره معمولی و جیره دارای سطوح زیاد *SRU Lab*، احتمالاً به دلیل عدم متعادل نمودن تجزیه نیتروژن و استفاده حداکثری از آن توسط میکروب‌های شکمبه جهت تولید پروتئین میکروبی است. در متن‌های بالا عنوان گردید که عدم همزمانی بین انرژی سهل‌الوصول و نیتروژن تجزیه‌پذیر در شکمبه تأثیر مهمی در سنتز پروتئین میکروبی و جلوگیری از هدرروی نیتروژن به‌صورت آمونیاک می‌شود (Azizi-Shotorkhoft *et al*., 2018). یک دلیل دیگر می‌تواند عدم دسترسی نیتروژن اوره توسط میکروب‌های شکمبه به علت غلظت بالای نیتروژن قابل دسترس باشد و ظرفیت تامپونی محیط شکمبه را تغییر دهد. در این شرایط آمونیاک اسیدهای چرب را خنثی کرده و pH محیط را افزایش داده و آزادسازی CO_2 از مایع بافری شکمبه را کاهش دهد و در نتیجه تولید توده میکروبی را کاهش می‌دهد (Azizi *et* al., 2019). بررسی‌های قبلی نشان می‌دهد پروتئین میکروبی متشکل از ۶۰ درصد نیتروژن غیر آمونیاکی است که از شکمبه گاوهای شیرده خارج می‌گردد (Reynal *et al*., 2003؛ Korhonen *et al*., 2002). قابلیت هضم این پروتئین در روده باریک در حدود ۸۰ درصد بوده و مقدار لیزین و متیونین در این نوع پروتئین بسیار مشابه نسبت این اسیدهای آمینه در شیر می‌باشد (NRC, 2001) بنابراین اتخاذ هر راهکاری که بتواند منجر به تولید حداکثر پروتئین میکروبی گردد نه تنها توانسته است بازدهی نیتروژن مصرفی را افزایش دهد بلکه می‌تواند باعث کاهش هزینه‌های تمام‌شده خوراک و همچنین کاهش آلودگی‌های زیست محیطی گردد (Azizi *et al*., 2019؛ Broderick, 2006). گزارش‌شده است اوره آهسته رهش بعلت آزادسازی تدریجی اوره در شکمبه و با کاهش بخش محلول تجزیه‌پذیری و جلوگیری از اشباع تولید آمونیاک در شکمبه، نرخ تولید پروتئینی میکروبی را افزایش می‌دهد (Guo *et al*., 2022).

جدول ۲. نتایج تولید گاز و فراسنجه‌های گاز تولیدی تیمارهای آزمایشی (براساس توابع پیشنهادی *Orskov_ McDonald*)

متغیرها	جیره‌های آزمایشی†				SEM	سطح معنی‌داری
	شاهد	۱	۲	۳		
تولید گاز تجمعی (میلی‌لیتر برگرم ماده خشک)						
2*h*	۱۳/۰۴	۱۲/۵۹	۱۰/۴۸	۱۰/۹۳	۱/۴۵۹	۰/۳۳۸
4*h*	۳۹/۵۶	۳۶/۵۱	۳۸/۸۴	۳۴/۳۵	۳/۷۸۰	۰/۱۱۴
6*h*	۷۷/۴۰	۸۳/۵۷	۸۰/۷۹	۸۰/۰۷	۳/۶۴۰	۰/۶۷۴
8*h*	۱۰۰/۵۴^{ab}	۱۰۶/۷۱^{a}	۹۵/۹۸^{b}	۹۵/۷۶^{b}	۳/۹۸۵	۰/۰۰۲
12*h*	۱۲۹/۳۹^{b}	۱۳۵/۰۶^{ab}	۱۴۷/۳۹^{b}	۱۴۷/۱۷^{a}	۴/۸۳۸	۰/۰۰۱
16*h*	۱۵۴/۸۴^{b}	۱۵۸/۷۹^{ab}	۱۷۴/۴۰^{b}	۱۷۴/۴۱^{a}	۵/۹۲۱	۰/۰۰۱
24*h*	۱۹۹/۳۹^{a}	۱۸۲/۳۴^{b}	۱۸۹/۵۰^{a}	۱۸۹/۹۵^{ab}	۶/۵۸۸	۰/۰۰۱
36*h*	۲۵۲/۲۳	۲۴۰/۶۲	۲۴۴/۱۲	۲۴۴/۵۶	۵/۷۶۴	۰/۱۱۲
48*h*	۲۷۹/۶۷^{a}	۲۵۴/۴۵^{c}	۲۶۰/۳۹^{b}	۲۶۰/۵۰^{b}	۵/۲۵۵	۰/۰۰۰۱
72*h*	۱۹۷/۳۹^{a}	۲۶۸/۸۹^{c}	۲۸۹/۵۰^{ab}	۲۸۰/۶۷^{b}	۵/۰۲۰	۰/۰۰۰۱
96*h*	۳۰۲/۵۳^{a}	۲۸۰/۵۸^{c}	۲۹۵/۶۴^{ab}	۲۸۸/۴۲^{b}	۴/۹۶۱	۰/۰۰۰۱
فراسنجه‌های تولید گاز						
A [*ml h^{-1}*]	۳۰۸/۴۱^{a}	۲۷۸/۴۸^{c}	۲۹۰/۵۱^{b}	۲۸۵/۵۳^{b}	۵/۶۳۶	۰/۰۰۱
C [*h^{-1}*]	۰/۰۵۳^{b}	۰/۰۴۸^{c}	۰/۰۶۲^{a}	۰/۰۵۴^{b}	۰/۰۰۱۸	۰/۰۰۱
Lag [*h^{-1}*]	۰/۲۷۶^{b}	۰/۲۵۱^{b}	۰/۳۴۳^{b}	۱/۰۲۵^{a}	۰/۰۹۵	۰/۰۰۱
Halftime ($t_{1/2}$)††	۱۶	۱۶	۱۶	۱۲	–	–
$IVOMD_{T1/2,}$ %	۷۹/۳۷^{a}	۵۸/۱۹^{c}	۷۷/۱۱^{a}	۶۸/۹۴^{b}	۴/۰۸۱	۰/۰۰۱

$PF_{OM,}$ *mg/mL*†††	۴/۳۲^{a}	۳/۴۳^{c}	۴/۰۱^{ab}	۳/۶۵^{bc}	۰/۱۷۹	۰/۰۰۱
MBP	۹۷/۰۷^{a}	۶۹/۲۵^{c}	۱۰۴/۴۲^{a}	۸۳/۲۱^{b}	۵/۳۳۱	۰/۰۰۱
EMBP	۰/۴۳^{b}	۰/۳۳^{c}	۰/۴۹^{a}	۰/۴۲^{b}	۰/۰۱۰	۰/۳۳^{c}

†: جیره آزمایشی شامل ۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره معمولی؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ A: حداکثر پتانسیل تولید گاز (تولید گاز بخش محلول و غیر محلول)؛ C: نرخ تولید گاز؛ lag: زمان تاخیر (ساعت)؛ ††زمانی است که نصف حجم گاز تولیدی کل در آن حاصل گردد؛ †††: شاخص بخش‌پذیری؛ EMPS: بازده تولید توده میکروبی، MBP: تولید توده میکروبی بر حسب میلی‌گرم، IVOMD: ماده آلی قابل تجزیه در شرایط برون‌تنی؛ SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ مقایسات تیمارها (تفاوت کمترین میانگین مربعات)، حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P\leq 0.05$)

میزان ناپدید شدن DM، CP و NDF جیره‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی طی ساعات مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی در جدول (۳) نشان داده‌شده است. بیش از ۵۰ درصد میزان ناپدید شدن مادهٔ خشک جیره‌های آزمایشی بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون رخ داد. ناپدید شدن مادهٔ خشک در زمان ۲۴ بعد از انکوباسیون برای جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به اوره معمولی به طور معنی‌دار بیشتر بود ($P\leq 0.01$). طبق جدول (۳) مشخص گردید در ساعات اولیه انکوباسیون، تأثیر جیره‌های حاوی *SRU Lab* بر ناپدید شدن پروتئین خام معنی‌دار می‌باشد ($P\leq 0.01$) اما بر میزان ناپدید شدن NDF تأثیر معنی‌داری ندارد ($P\geq 0.05$). در حالی که با گذشت ساعات انکوباسیون میزان ناپدید شدن NDF و CP جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به جیره شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت ($P\geq 0.05$). نتایج مطالعه‌ی حاضر، با گزارش‌های نتایج Gardinal و همکاران، (۲۰۱۸) و Xin و همکاران، (۲۰۱۰) در یک راستا می‌باشد. در گزارش‌های قبلی، سطوح زیاد مصرف اوره آهسته رهش، منجر به افزایش درصد قابلیت هضم مواد مغذی شده است (Calomeni *et al.*, 2015؛ Alipour *et al.*, 2018). Xin و همکاران، (۲۰۱۰) هیچ اثر معنی‌دار از نظر قابلیت هضم مواد مغذی جیره گاوهای شیری مکمل‌شده با اوره معمولی و محافظت‌شده با پلی‌اورتان[1] را گزارش نکردند (Xin *et al.*, 2010). همچنین Gardinal و همکاران، (۲۰۱۷) نشان دادند با افزودن ۲ درصد اوره آهسته رهش با پوشش پلیمری در جیره غذایی گاومیش‌های *Nellore* قابلیت هضم مواد مغذی در کل دستگاه گوارش تحت تأثیر قرار نگرفت. در مقابل Alipour و همکاران، (۲۰۱۸) مشاهده کردند با افزایش سطح مصرف اوره آهسته رهش از ۰، ۰/۵، ۱ تا ۱/۷۵ درصد در جیره غذایی حاوی کنسانتره زیاد، قابلیت هضم برون‌تنی NDF افزایش یافت. مطالعه دیگر نشان داد گاوهای شیرده هنگام دریافت کنسانتره حاوی اوره آهسته رهش، قابلیت هضم پروتئین خام جیره غذایی در کل دستگاه گوارش افزایش یافت (Galo *et al.*, 2003). نظریهٔ استفاده از اوره آهسته رهش در جیره دام‌های پرورشی به‌منظور ایجاد سازگاری بین منبع نیتروژن و نیتروژن آمونیاکی شکمبه برای افزایش فعالیت میکروب‌های فیبرولیتیک‌ها و در نهایت تولید پروتئین میکروبی می‌باشد. واضح است که منبع پایدار نیتروژن می‌تواند بر هضم بهتر مواد مغذی در شکمبه تأثیر بگذارد (Spanghero *et al.*, 2018). اختلاف نظر در مورد غلظت بهینه نیتروژن آمونیاکی بین Mehrez و Orskov، (۱۹۷۷) و Leng و Nolan، (۱۹۸۴) به ترتیب ۱۹ و ۲۳ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برای هضم فیبر وجود دارد. Ran و همکاران، (۲۰۲۱) گزارش کردند غلظت نیتروژن آمونیاکی بیش‌تر از ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر برای رشد باکتری‌های سلولولیتیک ضروری است. درحالی‌که Alipour و همکاران، (۲۰۱۸) عنوان کردند که هر جیره غذایی در شکمبه دارای ظرفیت بهینه‌ای تولید آمونیاک است و ساخت پروتئین میکروبی و مصرف آمونیاک به نرخ تخمیر کربوهیدرات مربوط می‌شود. در آزمایش حاضر، عدم تفاوت معنی‌دار جیره شاهد نسبت به جیره‌های حاوی ۰/۴۳ و ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک *SRU Lab* بر میزان ناپدید شدن مواد مغذی ممکن است به دلیل عمل صحیح پوشش‌دار کردن اوره باشد.

جدول ۳. میزان ناپدید شدن مادهٔ مغذی جیره‌های آزمایشی در شرایط برون‌تنی

[1]-*Polyurethane*

ساعات انکوباسیون	جیره‌های آزمایشی†				SEM	سطح معنی‌داری
	شاهد	۱	۲	۳		
مادهٔ خشک (براساس درصد DM)						
4*h*	۴۲/۹۴^{a}	۳۳/۴۰^{b}	۴۳/۷۰^{a}	۴۰/۸۴^{a}	۲/۸۳۹	۰/۰۰۳
8*h*	۴۸/۸۵	۴۵/۴۹	۴۸/۲۱	۴۶/۲۱	۳/۱۸۶	۰/۶۸۲
12*h*	۶۱/۰۰^{a}	۴۷/۴۸^{c}	۵۸/۶۵^{ab}	۵۵/۱۲^{b}	۳/۳۹۷	۰/۰۰۱
24*h*	۷۱/۶۲^{a}	۵۷/۰۷^{c}	۶۹/۴۹^{ab}	۶۶/۴۱^{b}	۵/۲۷۵	۰/۰۰۱
48*h*	۷۶/۹۲^{a}	۶۳/۶۰^{b}	۷۶/۴۸^{a}	۷۲/۹۳^{a}	۳/۹۹۴	۰/۰۰۱
پروتئین خام (براساس درصد DM)						
4*h*	۳۸/۵۷^{a}	۲۰/۳۱^{c}	۳۶/۲۴^{a}	۳۰/۷۲^{b}	۲/۹۶۸	۰/۰۰۴
8*h*	۵۰/۸۱^{a}	۲۸/۸۲^{c}	۳۷/۳۰^{b}	۳۸/۸۸^{b}	۲/۸۵۳	۰/۰۰۱
12*h*	۶۴/۵۳^{a}	۴۰/۷۱^{c}	۵۴/۸۰^{b}	۵۴/۵۲^{b}	۳/۷۷۲	۰/۰۰۱
24*h*	۶۶/۲۴^{a}	۴۲/۹۰^{c}	۶۵/۰۴^{a}	۶۰/۵۰^{b}	۲/۷۲۸	۰/۰۰۱
48*h*	۷۷/۳۱^{a}	۵۹/۷۸^{c}	۷۵/۱۰^{a}	۷۲/۹۴^{b}	۳/۵۵۸	۰/۰۰۱
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (براساس درصد DM)						
4*h*	۲۱/۵۴	۱۹/۴۸	۴۹۲۰^{a}	۲۰/۲۵	۱/۱۱۶	۰/۳۲۲
8*h*	۲۹/۶۲	۲۴/۰۲	۲۸/۵۲	۲۸/۴۵	۱/۲۴۸	۰/۵۱۸
12*h*	۳۵/۹۱^{a}	۲۷/۳۵^{b}	۳۴/۷۳^{a}	۳۲/۸۴^{a}	۲/۸۶۵	۰/۰۰۱
24*h*	۴۲/۹۴^{a}	۳۳/۴۰^{b}	۴۳/۷۰^{a}	۴۰/۸۴^{a}	۲/۴۲۶	۰/۰۰۰۱
48*h*	۴۹/۸۵^{a}	۳۹/۴۹^{b}	۴۹/۲۱^{a}	۴۶/۲۱^{a}	۳/۷۴۵	۰/۰۰۰۱

†: جیره آزمایشی شامل ۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره معمولی؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ مقایسات تیمارها (تفاوت کمترین میانگین مربعات)، حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P\leq 0.05$)

اسیدهای چرب فرّار (VFA) محصولات نهایی مهم تخمیر هستند که توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تولید می شوند. عواملی از قبیل ترکیب جیره، شرایط محیطی و جمعیت میکروبی بر محتوای و ترکیب VFA در شکمبه تأثیر می گذارند. در مطالعه حاضر، مقدار کل VFA (جدول ۴) برای جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به جیره شاهد در طی ساعات انکوباسیون تغییر نکرد اما غلظت کل VFA جیره حاوی اوره بدون پوشش به صورت معنی‌دار کاهش یافت ($P\leq 0.01$). تولید گاز تجمعی با افزایش دُز مصرف *SRU Lab* ممکن است با کاهش خطی نیتروژن آمونیاکی مرتبط باشد به‌طوری‌که غلظت نیتروژن آمونیاکی تولیدشده در محیط کشت‌های برون‌تنی برای دُزهای مختلف *SRU Lab* نسبت به اوره معمولی کم بود. مشخص‌شده است آمونیاک با تاثیر بر غلظت VFA و انتشار CO_2 در محیط‌های تخمیری، ظرفیت بافری محیط را کاهش داده و در نتیجه مقدار تولید گاز کاهش می‌یابد (Spanghero *et al.*, 2018). در مقایسه با جیره اوره بدون پوشش، مقدار ماده آلی قابل تجزیه و تولید کل VFA برای جیره شاهد و *SRU Lab* بیشتر و گاز تجمعی تولیدشده (برحسب *ml/g*DM) کمتر می‌باشد. بنابراین تولید گاز کم، همراه با قابلیت هضم ماده آلی زیاد برای جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به اوره بدون پوشش نشان‌دهندهٔ کارایی زیاد تخمیر در محیط‌کشت می‌باشد. در شرایط برون‌تنی، تولید VFA و توده میکروبی در اثر هضم حقیقی منجر به تخمیر مناسب نمونه‌های خوراک خواهد شد که در جیره‌های حاوی *SRU Lab* این مطلب توضیح داده شد (جداول ۲ و ۴). براساس گزارش‌های قبلی توسط دیگر محققان، تاثیر اوره آهسته رهش بر غلظت کل VFA متغیر و گوناگون می‌باشد. در برخی گزارش‌ها تأثیر اوره آهسته رهش بر غلظت کل VFA منفی عنوان‌شده است (Ran *et al.*, 2021) و در برخی مطالعات نتایج مثبت و افزایشی گزارش‌شده است (Alipour *et al.*, 2018). دلایل گزارش نتایج مختلف را ترکیب جیره و نیز سطح مصرف مکمل اوره آهسته رهش عنوان کردند. در آزمایش مشایخی و همکاران (۱۳۹۷) غلظت مجموع VFA در تیمارهای مختلف نشان داد که اوره آهسته رهش و اوره معمولی در مقایسه با سویا،

اثرات منفی بر تخمیر شکمبه نداشتند. همچنین غلظت مجموع VFA تحت تاثیر جیره‌های حاوی اوره آهسته رهش (اوره کلسیمی) و اوره معمولی، قرار نگرفت. آزمایش انجام‌شده توسط Sinclair و همکاران، (۲۰۱۲) نشان داد پوشش‌دار کردن اوره با کلرید آمونیوم نسبت به اوره معمولی غلظت آمونیاک شکمبه را افزایش داده و به دنبال آن منجر به کاهش استات و افزایش پروپیونات و کاهش نسبت استات به پروپیونات می‌شود.

جدول ٤. غلظت کل اسیدهای چرب فرّار (VFA) و نیتروژن آمونیاکی (NH3-N) حاصل از تخمیر جیره‌های آزمایشی در شرایط برون‌تنی

ساعات انکوباسیون	جیره‌های آزمایشی†				SEM	سطح معنی‌داری
	شاهد	۱	۲	۳		
نیتروژن آمونیاکی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)						
4h	۵/۰۴^{a}	۵/۸۰^{b}	۴/۳۲^{a}	۴/۱۲^{a}	۰/۱۲۴	۰/۰۰۱
8h	۶/۵۰^{b}	۸/۰۹^{a}	۵/۱۴^{c}	۵/۱۰^{c}	۰/۳۶۷	۰/۲۵۷
12h	۹/۷۴^{b}	۱۰/۲۱^{a}	۸/۱۹^{c}	۸/۱۲^{c}	۰/۷۷۲	۰/۰۰۱
24h	۱۷/۱۲^{a}	۱۸/۱۱^{a}	۱۶/۸۷^{b}	۱۶/۳۳^{b}	۰/۹۲۱	۰/۰۰۱
48h	۲۰/۳۳^{b}	۲۳/۷۳^{a}	۱۹/۰۳^{b}	۲۰/۹۳^{b}	۱/۰۱۲	۰/۰۰۱
کل اسیدهای چرب فرّار (میلی‌مول در دسی‌لیتر)						
4h	۴/۵۰^{a}	۳/۴۳^{b}	۴/۲۴^{a}	۴/۷۴^{a}	۰/۱۴۵	۰/۰۱۷
8h	۵/۴۲^{ab}	۳/۹۶^{c}	۶/۰۸^{a}	۵/۲۵^{ab}	۰/۳۷۲	۰/۰۰۱
12h	۶/۲۵^{b}	۵/۴۷^{c}	۷/۸۵^{a}	۷/۴۲^{a}	۰/۳۶۱	۰/۰۰۱
24h	۸/۸۹^{a}	۶/۳۳^{b}	۸/۷۴^{a}	۷/۹۳^{a}	۰/۱۱۵	۰/۰۰۱
48h	۱۰/۴۶^{a}	۸/۲۱^{b}	۱۰/۲۴^{a}	۹/۳۵^{ab}	۰/۳۵۶	۰/۰۰۱

†: جیره آزمایشی شامل ۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد مادهٔ خشک اوره معمولی؛ ۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ ۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد مادهٔ خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ مقایسات تیمارها (تفاوت کمترین میانگین مربعات)، حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P\leq 0.05$)

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*) از نظر نرخ آزادسازی اوره در انواع محلول‌های بافری نسبت به اپتی‌ژن آهسته‌تر بود. همچنین روی سرعت و روند تخمیر، غلظت کل VFA، بازده تولید تودهٔ میکروبی و نیز قابلیت هضم مادهٔ مغذی در شرایط برون‌تنی نسبت به جیره شاهد بدون منبع اوره تغییر قابل‌توجهی نداشت. مزایای بالقوه افزودن *SRU Lab* جهت بهبود قابلیت هضم آزمایشگاهی و تولید پروتئین میکروبی در این مطالعه مشهود بود. به‌طورکلی افزودن *SRU Lab* به جیره‌های آزمایشی نسبت به اوره بدون پوشش تأثیر نامطلوبی بر گوارش‌پذیری برون‌تنی مواد مغذی، روند تولید گاز و سایر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده نداشت. از داده‌های به‌دست‌آمده در این آزمایش، استنباط می‌گردد محصول *SRU Lab* احتمالاً موقع استفاده در جیره دام می‌تواند علاوه بر کاهش هزینه‌های اقتصادی باعث بهبود عملکرد و صفات تولیدی گله‌های تجاری گردد. به‌هرحال، نتایج برون‌تنی مطالعه حاضر نیازمند تأیید در شرایط درون‌تنی و دام زنده هستند.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان از دفتر تحقیق و توسعه شرکت بهبد رشد افزون البرز به دلیل فراهم نمودن زمینه اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

Alipour, D., Saleem, A. M., Sanderson, H., Brand, T., Santos, L. V., Mahmoudi-Abyane, M. ... & McAllister, T. A. (2020). Effect of combinations of feed-grade urea and slow-release urea in a finishing beef diet on fermentation in an artificial rumen system. *Translational Animal Science*, 4(2), 839-847.
Azizi, A., Sharifi, A., & Fazaeli, H. (2019). Effect of one produced slow-release urea component on gas production, fermentation, nutrient disappearance and activity of microbial enzymes using rumen liquor of sheep. *Animal Sciences Journal*, 32(122), 279-290.
Azizi-Shotorkhoft, A., Sharifi, A., Azarfar, A., & Kiani, A. (2018). Effects of different carbohydrate sources on activity of rumen microbial enzymes and nitrogen retention in sheep fed diet containing recycled poultry bedding. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 50-54. In Persian
Beig, B., Niazi, M.B.K., Jahan, Z., Hussain, A., Zia, M.H. and Mehran, M.T. (2020). Coating materials for slow release of nitrogen from urea fertilizer: A review. *Journal of plant nutrition*, 43(10), pp.1510-1533.
Blümmel, M., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (1997). In vitro gas production: a technique revisited. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 77(1- 5), 24-34.
Broderick, G.A. and 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(1), pp.64-75.
Calomeni, G. D., Gardinal, R., Venturelli, B. C., Freitas Júnior, J. E. D., Vendramini, T. H. A., Takiya, C. S. ... & Rennó, F. P. (2015). Effects of polymer-coated slow-release urea on performance, ruminal fermentation, and blood metabolites in dairy cows. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44, 327-334.
Ceconi, I., Ruiz-Moreno, M. J., DiLorenzo, N., DiCostanzo, A., & Crawford, G. I. (2015). Effect of slow-release urea inclusion in diets containing modified corn distillers grains on total tract digestibility and ruminal fermentation in feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 93(8), 4058-4069.
Chalupa, W. (2007). Precision feeding of nitrogen to lactating dairy cows: a role for Optigen® II. In *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries: Proceedings of Alltech's 23rd Annual Symposium. The New Energy Crisis: Food, Feed or Fuel?* (pp. 221-226). Alltech UK.
Chegeni, A., Li, Y. L., Deng, K. D., Jiang, C. G., & Diao, Q. Y. (2013). Effect of dietary polymer-coated urea and sodium bentonite on digestibility, rumen fermentation, and microbial protein yield in sheep fed high levels of corn stalk. *Livestock Science*, 157(1), 141-150.
Cherdthong, A., & Wanapat, M. (2014). In vitro gas production in rumen fluid of buffalo as affected by urea- calcium mixture in high- quality feed block. *Animal Science Journal*, 85(4), 420-426.
Cherdthong, A., Wanapat, M., & Wachirapakorn, C. (2011). Effects of urea–calcium mixture in concentrate containing high cassava chip on feed intake, rumen fermentation and performance of lactating dairy cows fed on rice straw. *Livestock Science*, 136(2-3), 76-84.
Ferme, D., Banjac, M., Calsamiglia, S., Busquet, M., Kamel, C., & Avguštin, G. (2004). The effects of plant extracts on microbial community structure in a rumen-simulating continuous-culture system as revealed by molecular profiling. *Folia Microbiologica*, 49, 151-155.
Galo, E., Emanuele, S. M., Sniffen, C. J., White, J. H., & Knapp, J. R. (2003). Effects of a polymer-coated urea product on nitrogen metabolism in lactating Holstein dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 86(6), 2154-2162.
Golombeski, G. L., Kalscheur, K. F., Hippen, A. R., & Schingoethe, D. J. (2006). Slow-release urea and highly fermentable sugars in diets fed to lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 89(11), 4395-4403.
Gonçalves, A. P., Nascimento, C. F. M. D., Ferreira, F. A., Gomes, R. D. C., Manella, M. D. Q., Marino, C. T., ... & Rodrigues, P. H. M. (2015). Slow-release urea in supplement fed to beef steers. *Brazilian Archives of Biology &Technology*, 58, 22-30.
Guo, Y., Xiao, L., Jin, L., Yan, S., Niu, D., & Yang, W. (2022). Effect of commercial slow-release urea product on in vitro rumen fermentation and ruminal microbial community using RUSITEC technique. *Journal of Animal Science & Biotechnology*, 13(1), 56.
Harrison, G. A., Meyer, M. D., & Dawson, K. A. (2008). Effect of Optigen and dietary neutral detergent fiber level on fermentation, digestion, and N flow in rumen-simulating fermenters. *Journal of Dairy Science*, 91(Suppl 1), 489.
Huntington, G. B., Harmon, D. L., Kristensen, N. B., Hanson, K. C., & Spears, J. W. (2006). Effects of a slow-release urea source on absorption of ammonia and endogenous production of urea by cattle. *Animal Feed Science & Technology*, 130(3-4), 225-241.
Mazinani, M., Naserian, A. A., Danesh Mesgaran, M., & Valizadeh, R. (2019). Determination of coated urea releasing in ruminant's rumen through in vivo and in vitro studies. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 11(2), 179-193. In Persian
Olivera, R. M. P. (1998). Use of in vitro gas production technique to assess the contribution of both soluble and insoluble fractions on the nutritive value of forages. *A thesis to the University of Aberdeen, Scotland, in partial fulfillment of the degree of Master of Science in animal nutrition*. (PP. 56-62).
Ørskov ER, McDonald I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*. 92(2):499-503.

Ottenstein D and Bartley D. 1971. Improved gas chromatography separation of free acids C2-C5 in dilute solution. *Analytical Chemistry*. 43(7):952-955.
Parnian-Khajehdizaj, F., Taghizadeh, A., Hosseinkhani, A., & Mesgaran, M. D. (2018). Evaluation of dietary supplementation of B vitamins and HMBI on fermentation kinetics, ruminal or post-ruminal diet digestibility using modified in vitro techniques. *Journal of BioScience & Biotechnology*, 7(2-3), 125-133.
Ran, T., Jin, L., Abeynayake, R., Saleem, A. M., Zhang, X., Niu, D. ... & Yang, W. (2021). Effects of brewers' spent grain protein hydrolysates on gas production, ruminal fermentation characteristics, microbial protein synthesis and microbial community in an artificial rumen fed a high grain diet. *Journal of Animal Science & Biotechnology*, 12(1), 1-14.
Salami, S. A., Moran, C. A., Warren, H. E., & Taylor-Pickard, J. (2020). A Meta-Analysis of the Effects of Slow-Release Urea Supplementation on the Performance of Beef Cattle. *Animals*, 10(4), 657.
Spanghero, M., Nikulina, A., & Mason, F. (2018). Use of an in vitro gas production procedure to evaluate rumen slow-release urea products. *Animal Feed Science & Technology*, 237, 19-26.
Tang, J. W., Mu, R. Z., Zhang, B. L., & Fan, X. S. (2007). Solubility of urea phosphate in water+ phosphoric acid from (277.00 to 354.50) K. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 52(4), 1179-1181.
Taylor-Edwards, C. C., Elam, N. A., Kitts, S. E., McLeod, K. R., Axe, D. E., Vanzant, E. S., ... & Harmon, D. L. (2009). Influence of slow-release urea on nitrogen balance and portal-drained visceral nutrient flux in beef steers. *Journal of Animal Science*, 87(1), 209-221.
Tedeschi, L. O., Baker, M. J., Ketchen, D. J., & Fox, D. G. (2002). Performance of growing and finishing cattle supplemented with a slow-rlease urea product and urea. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(4), 567-573.
Tikofsky, J., & Harrison, G. A. (2006). Optigen® II: Improving the efficiency of nitrogen utilization in the dairy cow. *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries: Proceedings of Alltech's 22nd Annual Symposium, Lexington, Kentucky*, (pp. 373-380). Alltech UK.
Trei, J., Hale, W. H., & Theurer, B. (1970). Effect of grain processing on in vitro gas production. *Journal of Animal Science*, 30(5), 825-831.
Xin, H. S., Schaefer, D. M., Liu, Q. P., Axe, D. E., & Meng, Q. X. (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(4), 491-500.
Yamamoto, C. F., Pereira, E. I., Mattoso, L. H., Matsunaka, T., & Ribeiro, C. (2016). Slow release fertilizers based on urea/urea–formaldehyde polymer nanocomposites. *Chemical Engineering Journal*, 287, 390-397.
Yan, X. T., Yan, B. Y., Ren, Q. M., Dou, J. J., Wang, W. W., Zhang, J. J., ... & Qiu, Q. (2018). Effect of slow-release urea on the composition of ruminal bacteria and fungi communities in yak. *Animal Feed Science & Technology*, 244, 18-27.
Zhou, Z., Meng, Q., Li, S., Jiang, L., & Wu, H. (2017). Effect of urea-supplemented diets on the ruminal bacterial and archaeal community composition of finishing bulls. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 101, 6205-6216.

Extended Abstract

Introduction

Dietary protein plays an important role in ruminant nutrition for providing amino acids and the nitrogen (N) source for microbial protein production in rumen. However, the dietary protein is an expensive feed ingredient, and thus a strategy to reduce feed cost without negatively impact animal production needs to be considered. Using slow-release urea (SRU) as a rapidly digestible N source with fermentable energy to support microbial protein synthesis in rumen is the primary purpose. Therefore, the addition of SRU in the diet of ruminants is important not only for providing N sourceS, but also for the diversity and ruminal microbial population. Considering the importance of this object, the present study was carried out in order to evaluate the effects of supplementing the diet with different sources of urea on nitrogen release rate, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in vitro.

Materials and methods

For this purpose, four experimental rations include 1) ration without urea source [control]; 2) diet containing 0.38% of DM of Uncotaed Urea; 3) ration containing 0.43% DM of *SRU Lab*; 4) The ration containing 0.86% DM of *SRU Lab* was adjusted. To investigate the solubility of slow release urea (*SRU Lab*) in buffer solutions including distilled water and phosphate buffer and McDougall buffer-ruminal fluid in 9 time series 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes was determined by photometric method. Fermentation kinetics, 96-hour gas production parameters, and nutrient disappearance in the time series of 4, 8, 12, 24, 48 hours were estimated using the modified gas production test.

Results and discussion

The results showed that the solubility of urea in buffer solutions for *SRU Lab* was low and with a gentle slope compared to commercial *Optigen*. But the solubility of urea in distilled water for *SRU Lab* was similar to *Optigen*. The results of 24-hour gas production for diets containing *SRU Lab* increased significantly ($P \leq 0.001$) compared to diets containing uncotaed urea. The digested organic matter

for the control diet and the diet containing *SRU Lab* was significantly higher than the diet containing uncotaed urea ($P \leq 0.05$). The highest amount of PF was for diets containing 0.43% DM of *SRU Lab* and control diet. More than 50% of dry matter disappearance rate of experimental diets occurred after 12 hours of incubation. The 24-hour dry matter digestibility of diets containing *SRU Lab* was significantly higher than uncotaed urea ($P \leq 0.01$). Significantly, changes in CP digestibility in the first hours of incubation were affected by diets containing *SRU Lab*, but changes in digestibility of NDF were not significant ($P \geq 0.05$). With the passage of incubation hours, the percentage of digestibility of NDF and CP in the diet containing 0.43% of *SRU Lab* compared to the control diet was not significantly different, but with the increase in the concentration of *SRU Lab* (fourth diet) the changes were significant and high ($P \leq 0.001$).

Conclusions

In general, the *SRU Lab* product was slower than *Optigen* in terms of urea release rate in various buffer solutions. The addition of *SRU Lab* to the experimental diets did not have an adverse effect on the in vitro digestibility of nutrients, gas production trends and other measured parameters compared to uncotaed urea.

ویراستاری نشده