



## Evaluating the effects of dietary supplementation with different sources of urea on nitrogen release rate, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in Vitro

Kian Sadeghi <sup>1</sup>, Mehdi Ganjkanlou <sup>2</sup>, Mehdi Dehghan Bonadaki <sup>3</sup>,  
Mostafa Sadeghi <sup>4</sup>, Abolfazl Zali <sup>5</sup>, Akbar Taghizadeh <sup>6</sup>

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [kian.sadeghi@ut.ac.ir](mailto:kian.sadeghi@ut.ac.ir)
2. Corresponding Author, Department of Animal Sciences, Faculty of Management, University of Tehran, Tehran, Iran. E-mail: [ganjkanlou@ut.ac.ir](mailto:ganjkanlou@ut.ac.ir)
3. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [dehghanb@ut.ac.ir](mailto:dehghanb@ut.ac.ir)
4. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [sadeghimos@ut.ac.ir](mailto:sadeghimos@ut.ac.ir)
5. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [a.zali@ut.ac.ir](mailto:a.zali@ut.ac.ir)
6. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran. E-mail: [a\\_taghizadeh@tabrizu.ac.ir](mailto:a_taghizadeh@tabrizu.ac.ir)

Article Info	ABSTRACT
<b>Article type:</b> Research Article	<p>The purpose of this experiment was to evaluate the effects of supplementing the diet with different sources of urea on the rate of nitrogen release, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in vitro. For this purpose, four experimental rations included 1) ration without urea source [control]; 2) diet containing 0.38% of DM of Uncotaed Urea; 3) ration containing 0.43% DM of <i>SRU Lab</i>; 4) The ration containing 0.86% DM of <i>SRU Lab</i> were formulated. Solubility of slow release urea (<i>SRU Lab</i>) in distilled water, phosphate buffer and McDougall buffer-ruminal fluid in 9 time series of 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes was determined using 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 <i>SRU Lab</i> was low and with a gentle slope compared to commercial optigen. But the solubility of urea in distilled water for <i>SRU Lab</i> was similar to <i>Optigen</i>. The results of 24-hour gas production for diets containing <i>SRU Lab</i> increased significantly (<math>P \leq 0.001</math>) compared to diets containing uncotaed urea. The digested organic matter for the control diet and the diet containing <i>SRU Lab</i> was significantly higher than the diet containing uncotaed urea (<math>P \leq 0.05</math>). The highest amount of PF was for diets containing 0.43% DM of <i>SRU Lab</i> 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 <i>SRU Lab</i> was significantly higher than uncotaed urea (<math>P \leq 0.01</math>). Changes in CP digestibility in the first hours of incubation were significantly affected by diets containing <i>SRU Lab</i>, but changes in digestibility of NDF were not significant (<math>P \geq 0.05</math>). Percentage of digestibility of NDF and CP in the diet containing 0.43% of <i>SRU Lab</i> compared to the control diet was not significantly different over the times of incubation, but with the increase in the concentration of <i>SRU Lab</i> (fourth diet) the changes were significant and high (<math>P \leq 0.001</math>). In general, the <i>SRU Lab</i> product was slower than <i>Optigen</i> in terms of urea release rate in various buffer solutions. The addition of <i>SRU Lab</i> 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.</p>
<b>Article history:</b> Received: 31 July 2023 Received in revised form: 2 June 2024 Accepted: 22 June 2024 Published online: Spring 2025	
<b>Keywords:</b> <i>slow-release urea,</i> <i>non-protein nitrogen,</i> <i>digestion kinetics,</i> <i>nutrient disappearance rate,</i> <i>gas production technique.</i>	

**Cite this article:** Sadeghi, K., Ganjkanlou, M., Dehghan Bonadaki, M., Sadeghi, M., Zali, A. & Taghizadeh, A. (2025). Evaluating the effects of dietary supplementation with different sources of urea on nitrogen release rate, fermentation kinetics, gas production parameters and nutrient disappearance rate in Vitro. *Iranian Journal of Animal Science*, 56 (1), 175-191. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.362519.653957>



## 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, thus a strategy to reduce feed cost without negative impact on 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

Four experimental rations included 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 were formulated. Solubility of slow release urea (SRU Lab) in buffer solutions of distilled water, phosphate buffer and McDougall buffer-ruminal fluid in 9 time series of 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420 and 480 minutes was determined using 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, 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 ( $P \leq 0.01$ ). Changes in CP digestibility in the first hours of incubation were significantly affected by diets containing SRU Lab, but changes in digestibility of NDF were not significant ( $P \geq 0.05$ ). Percentage of NDF digestibility 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.

### Author Contributions

Kian Sadeghi and Mehdi Ganjkanlou contributed to the project idea, design and execution of the study. Mostafa Sadeghi, Abolfazl Zali and Akbar Taghizadeh were in charge of laboratory analyses. Mehdi Ganjkanlou and Mehdi Dehghan Bonadaki were responsible for writing the manuscript. Kian Sadeghi and Mehdi Ganjkanlou was responsible for re-writing, scientific editing and finalizing the manuscript. Mostafa Sadeghi was responsible for Software, Validation the manuscript

### Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding authors, upon reasonable request.

### Acknowledgements

The authors would like to thank all participants of the present study.

### Ethical considerations

The study was approved by the Ethics Committee of the University of ABCD (Ethical code: IR.UT.RES.2024.500). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

### Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

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

کیان صادقی<sup>۱</sup> | مهدی گنج خانلو<sup>۲</sup> | مهدی دهقان بنادکی<sup>۳</sup> | مصطفی صادقی<sup>۴</sup> | ابوالفضل زالی<sup>۵</sup> | اکبر تقی‌زاده<sup>۶</sup>

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [kian.sadeghi@ut.ac.ir](mailto:kian.sadeghi@ut.ac.ir)

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [ganjkhanelou@ut.ac.ir](mailto:ganjkhanelou@ut.ac.ir)

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [dehghanb@ut.ac.ir](mailto:dehghanb@ut.ac.ir)

۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [sadeghimos@ut.ac.ir](mailto:sadeghimos@ut.ac.ir)

۵. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [a.zali@ut.ac.ir](mailto:a.zali@ut.ac.ir)

۶. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: [a\\_tagizadeh@tabrizu.ac.ir](mailto:a_tagizadeh@tabrizu.ac.ir)

### اطلاعات مقاله

### چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

هدف از این آزمایش، بررسی اثرات مکمل‌سازی جیره با منابع مختلف اوره بر نرخ آزادسازی نیتروژن، کینتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و ناپدید شدن ماده مغذی در شرایط برون‌تنی بود. برای این منظور چهار جیره آزمایشی شامل (۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد؛ (۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک اوره معمولی؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره آهسته رهش ابداعی؛ (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده 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 ماده 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 ( $P \leq 0.001$ ). ماده آلی تجزیه‌شده برای جیره شاهد و جیره حاوی SRU Lab نسبت به جیره حاوی اوره معمولی به‌طور معنی‌دار بیشتر بود ( $P \leq 0.05$ ). 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 ماده خشک جیره‌های آزمایشی بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون رخ داد. گوارش‌پذیری ماده خشک ۲۴ ساعته جیره‌های حاوی SRU Lab نسبت به اوره معمولی به‌صورت معنی‌دار بیشتر بود ( $P \leq 0.01$ ). 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 ( $P \geq 0.05$ ). 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 ( $P \leq 0.001$ ). 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 تأثیر 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 ماده مغذی، تولید گاز.

استناد: صادقی، کیان؛ گنج خانلو، مهدی؛ دهقان بنادکی، مهدی؛ صادقی، مصطفی؛ زالی، ابوالفضل و تقی‌زاده، اکبر (۱۴۰۴). اثرات مکمل‌سازی جیره با منابع مختلف اوره بر نرخ آزاد سازی نیتروژن، کینتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و ناپدید شدن ماده مغذی در شرایط برون‌تنی. *نشریه علوم دامی ایران*، ۵۶ (۱)، ۱۹۱-۱۷۵. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.362519.653957>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.362519.653957>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

## 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 میکروب-های 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 قابل توجهی متغیر بوده است (Xin et al., 2010; Alves et al., 2014; Yan et al., 2018). بازده اوره آهسته رهش احتمالاً به سرعت آزادسازی اوره، مقدار گنجاندن، نوع جیره، جمعیت میکروبی شکمبه، و شرایط محیطی میزبان، مانند جذب  $\text{NH}_3$  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 عمده تولیدکننده آمونیاک مانند *Prevotella ruminantium* و *Prevotella bryantii* کاهش غلظت  $\text{NH}_3\text{-N}$  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 گاو میش‌ها شده است (Yan et al., 2018). در شرایط آزمایشگاهی، گوارش پذیری 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 پروراری 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 (Yan et al., 2018, Guo et al., 2022).

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 تمام شده جیره را تحت تاثیر 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 گنجانیدن 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 مکمل سازی جیره با سطوح مختلف یک فرآورده اوره آهسته رهش بر کنیتیک تخمیر، فراسنجه‌های تولید گاز و میزان ناپدید شدن ماده مغذی در شرایط برون‌تنی<sup>۱</sup> مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### تولید اوره آهسته رهش

ساخت ترکیب اوره آهسته رهش با متصل نمودن ترکیبات معدنی (کربنات کلسیم، کلرید کلسیم و گوگرد) و آلی (مانند: اسید استتاریک، ملاس، کربوکسی متیل سلولز) به ماده زمینه‌ای (یعنی اوره) با استفاده از روش اکستروژن بهینه شده با دمای ۷۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Yamamoto et al., 2016). برای تشکیل ماتریکس کربوکسی متیل سلولز، از روش پلیمریزاسیون در محل با حضور کاتالیزور اسیدی (سود<sup>۲</sup> 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 (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- براق 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 ایزوالکتریک و آموتر بودن محلول‌های یاد شده استفاده گردید. به این منظور، مقدار ۱ گرم اوره آهسته رهش در ویال‌های ۱۲۰ سی‌سی همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر مایع مورد نظر 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

1-Invitro

2-In situ Polymerization

3-Optigen

نورسنجی و کیت پارس آزمون (UREA UV) و دستگاه آنالایزر 300 alcyon (Knorst et al., 1997) در مرکز تحقیق و توسعه دانشگاه علوم پزشکی تبریز تعیین شد و برای نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش پیشنهادی Kang و Broderick (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 ماده خشک اوره بدون پوشش‌دار؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره پوشش‌دار؛ و (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده خشک اوره پوشش‌دار. تجزیه شیمیایی جیره‌های غذایی با استفاده از روش‌های استاندارد (AOAC, 2005) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱. اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

جیره‌های آزمایشی*				ماده خوراکی
۳	۲	۱	کنترل	
<b>اجزای جیره‌ها براساس درصد ماده خشک</b>				
۲۴/۰۶	۲۳/۵۲	۲۳/۷۲	۲۳/۲۷	سیلاژ ذرت
۱۵/۸۲	۱۵/۴۶	۱۵/۵۹	۱۵/۸۷	یونجه
۲/۱۶	۲/۱۱	۲/۱۳	۲/۱۶	کاه گندم
۱۶/۸۵	۱۶/۸۰	۱۶/۹۴	۱۷/۲۴	ذرت خردشده
۹/۹۷	۷/۷۳	۷/۷۹	۷/۹۳	جو خردشده
۹/۷۱	۹/۴۹	۹/۵۷	۶/۹۵	سوس گندم
۴/۳۱	۷/۰۲	۷/۱۰	۷/۲۱	کنجاله پنبه دانه
۹/۹۵	۱۰/۱۲	۱۰/۲۷	۱۰/۴۷	کنجاله سویا
۳/۵۲	۴/۸۲	۳/۹۹	۶/۳۶	کنجاله کلزا
۱/۱۴	۰/۹۳	۰/۹۴	۰/۹۵	پودر چربی
۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	دی کلسیم فسفات
۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۸	۰/۵۸	بی‌کربنات سدیم
۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	۰/۳۵	مواد معدنی و ویتامینه**
۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	۰/۱۲	اکسید منیزیم
۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	۰/۱۹	زرین بایندر (بنتونیت)
۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	نمک
۰	۰	۰/۳۸	۰	اوره معمولی (۲۸۱ درصد CP)
۰/۸۶	۰/۴۳	۰	۰	اوره آهسته رهش (۲۴۴ درصد CP)
<b>تجزیه شیمیایی (درصد ماده خشک)</b>				
۵۲/۱۹	۵۲/۲۶	۵۲/۳۰	۵۲/۲۴	ماده خشک
۱/۷۱	۱/۷۱	۱/۷۱	۱/۷۱	انرژی خالص شیردهی (مگا کالری بر کیلوگرم)
۱۷/۴۸	۱۷/۴۷	۱۷/۴۶	۱۷/۴۵	پروتئین خام
۳۲/۴۸	۳۲/۵۶	۳۲/۵۵	۳۲/۱۰	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
۱۸/۶۹	۱۹/۰۰	۱۹/۰۰	۱۹/۰۷	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
۲۷/۹۸	۲۶/۷۲	۲۶/۸۵	۲۶/۷۲	نشاسته
۵/۶۵	۶/۴۱	۶/۳۵	۷/۱۳	خاکستر

\*: جیره آزمایشی شامل (۱) جیره بدون منبع اوره (شاهد؛ ۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک اوره معمولی؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره آهسته رهش ابداعی؛ (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده 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<sub>3</sub>: ۳۰۰،۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی.

### اندازه گیری تولید گاز

اندازه گیری میزان تولید گاز با استفاده از روش Fedorah و Hrudehy (۱۹۸۳) در آزمایشگاه تغذیه پیشرفته گروه علوم دامی دانشگاه تهران انجام شد. مقدار ۳۰۰ میلی گرم از جیره های کاملاً مخلوط آسیاب شده با الک ۱ میلی متری توزین و داخل ویال های مخصوص ۱۲۰ میلی لیتری استریل ریخته شد. تعداد ۸ تکرار به ازای هر تیمار، برای سری زمان های انکوباسیون در نظر گرفته شد. نمونه شیرابه شکمبه از ۳ رأس گاو شیری هلشتاین مزرعه تحقیقاتی محمد شهر کرج دانشگاه تهران با وزن بدن  $58.0 \pm 3.0$  کیلوگرم و شکم زایش ۲، ۳ و ۴ که با جیره کاملاً مخلوط (نسبت علوفه به کنساتره ۴۰:۶۰) به مدت ۱۰ روز تغذیه شده بودند، جمع آوری و با پارچه متقال ۴ لایه ای صاف و در فلاسک محتوی گاز کربنیک سریعاً به آزمایشگاه منتقل گردید. شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی طبق روش مکدوگال (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 سانتی گراد قرار داده شد. سپس در هر شیشه (ویال) حاوی نمونه، مقدار ۲۰ میلی لیتر از مخلوط شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی ریخته شد و پس از تزریق گاز کربنیک و بی هوازی 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 سانتی گراد با ۶۵ دور در دقیقه قرار برای زمان های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت قرار داده شد. به منظور تصحیح مواد خوراکی، تخمیر و تولید گاز با منشاء شیرابه شکمبه در هر دوره انکوباسیون، هشت شیشه (ویال) که تنها حاوی ۲۰ میلی لیتر شیرابه شکمبه و بزاق مصنوعی به عنوان 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 & Hrudehy, 1983). تجزیه و تحلیل داده های مربوط به فراسنجه های کینتیک تولید گاز توسط معادله پیشنهادی McDonald و Ørskov (۱۹۷۹) و با استفاده از رویه NLIN و نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ و Fitcurve برآورد شد (رابطه ۱).

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

GP: گاز تولیدی تجمعی در زمان t؛ A: پتانسیل تولید گاز بر حسب میلی لیتر بر گرم ماده 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) می باشد. شاخص بخش پذیری جیره های آزمایشی بر اساس روش Blümmel و همکاران، (۱۹۹۷) اندازه گیری شد. این شاخص بیان کننده نسبت میلی گرم ماده آلی تجزیه شده به میلی لیتر حجم گاز تولید شده در واحد زمانی ۱/۲ انکوباسیون می باشد (Blümmel et al., 1997). پس از اتمام زمان انکوباسیون، کل محتوای ویال ها به درون ظرف ۵۰۰ میلی لیتری منتقل و ۱۰۰ سی سی محلول شوینده خنثی (NDS pH=۷/۴) اضافه شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه جوشانده شد. در ادامه محتوای باقیمانده نمونه ها را داخل بوتله های مخصوص ریخته و به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در آون خشک گردیدند و در نهایت توزین شدند. برای اندازه گیری خاکستر، نمونه های باقیمانده به مدت ۴ ساعت به کوره الکتریکی (۵۵۰ درجه سانتی گراد) انتقال یافتند. بعد از گذشت این زمان، بوتله های خاکستر به دسیکاتور منتقل شدند و پس از خنک شدن کامل، به دقت توزین شدند. در نهایت برای محاسبه شاخص بخش پذیری از روابط (۲) و (۳) استفاده گردید:

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{ماده آلی هضم شده حقیقی (میلی گرم)} = [\text{خاکستر} - \text{باقیمانده} - \text{مقدار اولیه}]$$

$$\text{رابطه ۳} \quad \frac{\text{میلی گرم ماده آلی حقیقی هضم شده}}{\text{میلی لیتر گاز تولید شده}} = \text{شاخص بخش پذیری}$$

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

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

در رابطه بالا، MBP: تولید توده میکروبی، TDOM: ماده آلی هضم شده حقیقی، gas at  $t_{1/2}$ : مقدار گاز تولید شده در زمان  $t_{1/2}$ ، SF: که فاکتور ثابت که برای مواد خشبی  $2/2$  و برای مواد کنسانتره‌ای  $2/34$  در نظر گرفته می‌شود.

$$\text{EMBS} = (\text{MBP}/\text{TDOM}) \times 100 \quad \text{رابطه (۵)}$$

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 ماده خشک، پروتئین خام و فیبر نامحلول در شوینده خنثی، با استفاده از یک روش برون‌تنی اصلاح یافته توسط Parnian-Khajehdzizaj 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  $2 \times 5 \times 3$  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 ماده 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 ماده 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 میکروارگانیزم‌های شکمبه، کیسه‌های تخلیه‌شده با بافر فسفات (pH 7.4) مطابق با روش Parnian-Khajehdzizaj و همکاران، (۲۰۱۴) شستشو گردید. همچنین برای اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرّار و نیتروژن آمونیاکی از هر تیمار مقدار ۱۰ میلی‌لیتر به‌طور جداگانه توسط فالدکون 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-متیل‌والریک اسید) به آن‌ها اضافه گردید، در نهایت اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرّار نمونه‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با ستون شیشه‌ای (۲ متر  $\times$  ۴۵ میلی‌متر) فیلیپس مدل PU4410 انجام شد (Ottenstein et al., 1971). برای اندازه‌گیری نیتروژن آمونیاکی مقدار ۴۰ میکرولیتر از شیرابه به همراه ۴۰ میکرولیتر آب مقطر و  $2/5$  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 سانتی‌گراد 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 (کجدال، AOAC) و فیبر شوینده خنثی (ون سوست، ۱۹۹۱) تجزیه و گوارش پذیری ماده مغذی پروتئین خام و فیبر شوینده خنثی در شرایط آزمایشگاهی (IVBCD) به صورت رابطه (۶) محاسبه گردید:

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

## تجزیه و تحلیل آماری

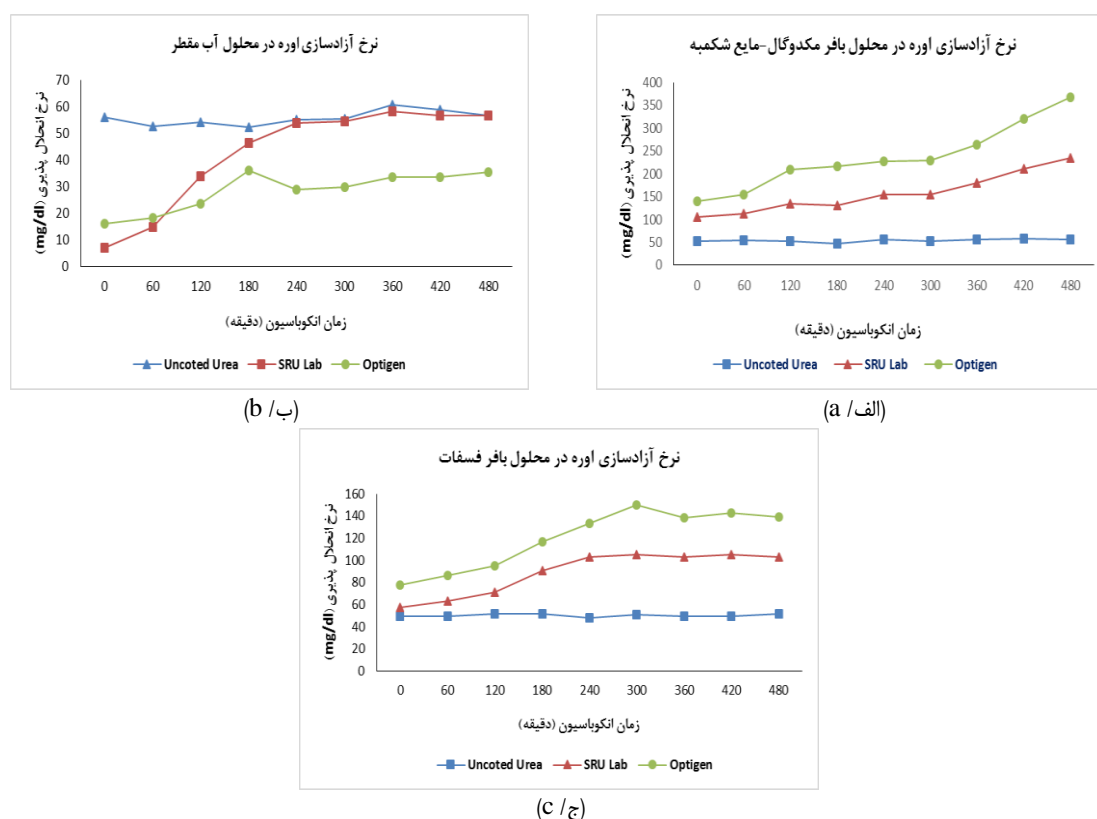
داده‌های مربوط به میزان انحلال پذیری اوره در زمان‌های مختلف، فراسنجه‌های تجزیه پذیری و تولید گاز با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و رویه GLM نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۳) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (رابطه ۷):

$$Y_i = \mu + T_i + e_i \quad \text{رابطه (۷)}$$

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

## نتایج و بحث

با توجه به شکل (۱) نرخ انحلال پذیری اوره در محلول مکدوگال و بافر فسفات برای اوره آهسته رهش ابداعی (SRU Lab) نسبت به اپتی ژن در طی زمان انکوباسیون کم و با شیب ملایم بود. در محلول آب مقطر انحلال پذیری SRU Lab مشابه با اپتی ژن بود. محصول SRU Lab کینتیک انحلال پذیری آهسته تری در کشت ثابت مایع شکمبه بافری شده و بافر فسفات نسبت به اپتی ژن نشان داد ( $P \leq 0.05$ ) و این کاهش میزان آزادسازی می‌تواند باعث افزایش بازده تولید پروتئین میکروبی، کاهش مسمومیت آمونیاکی و افزایش درصد مصرف NPN در جیره نشخوارکنندگان شود. در سال ۲۰۰۵، شرکت Alltech (لکسینگتون، KY) محصول اپتی ژن 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 کیسه گذاری برای اوره آهسته رهش ۰/۲۳۷ در ساعت بود. González و همکاران (۲۰۰۷) نتیجه گرفتند که اپتی ژن منبع کاملاً محافظت شده از NPN با خصوصیات کنترل شده در شکمبه است که با گزارش Stewart و همکاران، (۲۰۰۸) مطابقت دارد. عملکرد بیشتر نیتروژن میکروبی برای اپتی ژن نسبت به اوره‌های بدون پوشش در کشت مداوم شکمبه‌ای در برخی از موارد گزارش شده 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 اشاره شده است. Galo و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند در شرایط آزمایشگاهی، اوره پوشش دار شده با پلی مر نسبت به اوره معمولی بسیار آهسته تر 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 برون تنی مشاهده کردند که ترکیب اوره - کلسیم، آزادسازی نیتروژن آمونیاکی منظم تری نسبت به اوره معمولی دارد و همزمان سازی 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. انحلال پذیری منابع مختلف اوهره در (الف) محلول مایع شکمبه + بزاغ مصنوعی؛ (ب) محلول آب مقطر؛ و (ج) محلول بافر فسفات ( $P \leq 0.05$ )

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) ارائه شده است. در زمان‌های ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ) 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 اوهره معمولی نسبت به دیگر تیمارها بیشتر بود ( $P \leq 0.05$ ). در واقع گازی که طی ساعات اولیه انکوباسیون تولید می‌شود مربوط به گاز تولیدی مرتبط با بخش محلول می‌باشد و آنچه در این مطالعه به دست آمد، این است که اوهره معمولی حاوی نیتروژن آزاد زیادی می‌باشد و به افزایش تخمیر میکروبی کمک می‌نماید. در راستای مطالعه‌ی حاضر، گزارش شده است در زمان‌های اولیه به علت تجزیه سریع اوهره 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 تأثیر قرار می‌گیرد (Phesatcha & Wanapat, 2016). در زمان ۲۴ ساعت بعد از انکوباسیون حجم گاز تولیدی برای جیره‌های حاوی سطوح مختلف *SRU Lab* نسبت به جیره حاوی اوهره معمولی به‌طور معنی‌دار روند افزایشی داشت ( $P \leq 0.001$ ).

داده‌های فراسنجه‌های تولید گاز (جدول ۲) نشان داد که بیشترین نرخ تولید گاز برای جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک *SRU Lab* (۰/۰۶۲ در ساعت،  $P \leq 0.001$ ) و کمترین آن برای جیره حاوی اوهره معمولی (۰/۰۴۸ در ساعت،  $P \leq 0.01$ ) بود. پتانسیل تولید گاز همانند جیره شاهد برای جیره حاوی *SRU Lab* نسبت به اوهره معمولی بیشتر بود ( $P \leq 0.01$ ). اوهره بدون پوشش‌دار به سرعت توسط اوهره‌آزهای 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 اوهره 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 آزاد شده 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* تولید شده در این آزمایش به خوبی عمل رهاسازی اوره را انجام می‌دهد.

در مطالعه حاضر مقدار ماده آلی تجزیه‌شده برای تیمارهای مورد بررسی 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 ( $P \leq 0.001$ ). بیشترین مقدار شاخص بخش‌پذیری (PF) مربوط به جیره حاوی ۰/۴۳ درصد *SRU Lab* و جیره شاهد بود ( $P \leq 0.001$ ). 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) اختصاص یافته 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 ماده خشک)، مقدار PF نسبت به جیره شاهد کاهش یافت ( $P \leq 0.01$ ). 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-Azizi, 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-Azizi, 2018؛ Shotorkhoft et al., 2019؛ Mazinani et al., 2019). در تحقیق حاضر مقادیر PF در محدوده ۳/۴۳ تا ۴/۳۲ و در دامنه تئوری اعلام شده 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 منعکس کننده 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 مطرح شده است (Blümmel et al., 1997). حداکثر بازده تولید پروتئین میکروبی از خوراک تخمیر شده در شکمبه به عنوان یک اصل در تغذیه نشخوارکنندگان پذیرفته شده است، به طوری که افزایش بازده پروتئین میکروبی منجر به افزایش ترکیبات نیتروژنی از شکمبه به روده باریک می‌شود [طبق گفته NRC در سال ۱۹۹۲ غالباً بیش از نیمی از اسیدهای آمینه جذب شده توسط روده باریک در نشخوارکنندگان، از پروتئین میکروبی به دست می‌آید] بعلاوه از اتلاف کربن خوراک به فرم گازهای تخمیری جلوگیری می‌کند (Azizi et al., 2019؛ Anele et al., 2011).

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 ( $P \leq 0.001$ ). همچنین با افزایش سطح اوره آهسته رهش (۰/۸۶ درصد ماده خشک) تأثیر منفی بر بازده تولید پروتئین میکروبی داشت ( $P \leq 0.01$ ). 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 به صورت آمونیاک می‌شود (Azizi-Azizi, 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<sub>2</sub> 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). گزارش شده است اوره آهسته رهش، بعثت آزادسازی تدریجی اوره در شکمبه و با کاهش بخش محلول تجزیه‌پذیری و جلوگیری از اشیاع 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)

سطح معنی داری	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>†</sup>				متغیرها
		۳	۲	۱	شاهد	
		تولید گاز تجمعی (میلی لیتر بر گرم ماده خشک)				
۰/۳۳۸	۱/۴۵۹	۱۰/۹۳	۱۰/۴۸	۱۲/۵۹	۱۳/۰۴	2h
۰/۱۱۴	۳/۷۸۰	۳۴/۳۵	۳۸/۸۴	۳۶/۵۱	۳۹/۵۶	4h
۰/۶۶۴	۳/۶۴۰	۸۰/۰۷	۸۰/۷۹	۸۳/۵۷	۷۷/۴۰	6h
۰/۰۰۲	۳/۹۸۵	۹۵/۷۶ <sup>b</sup>	۹۵/۹۸ <sup>b</sup>	۱۰۶/۷۱ <sup>a</sup>	۱۰۰/۵۴ <sup>ab</sup>	8h
۰/۰۰۱	۴/۸۳۸	۱۴۷/۱۷ <sup>a</sup>	۱۴۷/۳۹ <sup>b</sup>	۱۳۵/۰۶ <sup>ab</sup>	۱۲۹/۳۹ <sup>b</sup>	12h
۰/۰۰۱	۵/۹۳۱	۱۷۴/۴۱ <sup>a</sup>	۱۷۴/۴۰ <sup>b</sup>	۱۵۸/۷۹ <sup>ab</sup>	۱۵۴/۸۴ <sup>b</sup>	16h
۰/۰۰۱	۶/۵۸۸	۱۸۹/۹۵ <sup>ab</sup>	۱۸۹/۵۰ <sup>a</sup>	۱۸۲/۳۴ <sup>b</sup>	۱۹۹/۳۹ <sup>a</sup>	24h
۰/۱۱۲	۵/۷۶۴	۲۴۴/۵۶	۲۴۴/۱۲	۲۴۰/۶۲	۲۵۲/۲۳	36h
۰/۰۰۰۱	۵/۲۵۵	۲۶۰/۵۰ <sup>b</sup>	۲۶۰/۳۹ <sup>b</sup>	۲۵۴/۴۵ <sup>c</sup>	۲۷۹/۶۷ <sup>a</sup>	48h
۰/۰۰۰۱	۵/۰۲۰	۲۸۰/۶۷ <sup>b</sup>	۲۸۹/۵۰ <sup>ab</sup>	۲۶۸/۸۹ <sup>c</sup>	۱۹۷/۳۹ <sup>a</sup>	72h
۰/۰۰۰۱	۴/۹۶۱	۲۸۸/۴۲ <sup>b</sup>	۲۹۵/۶۴ <sup>ab</sup>	۲۸۰/۵۸ <sup>c</sup>	۳۰۲/۵۳ <sup>a</sup>	96h
		فراسنجه‌های تولید گاز				
۰/۰۰۱	۵/۶۳۶	۲۸۵/۵۳ <sup>b</sup>	۲۹۰/۵۱ <sup>b</sup>	۲۷۸/۴۸ <sup>c</sup>	۳۰۸/۴۱ <sup>a</sup>	[ml h <sup>-1</sup> ] A
۰/۰۰۱	۰/۰۰۱۸	۰/۰۵۴ <sup>b</sup>	۰/۰۶۳ <sup>a</sup>	۰/۰۴۸ <sup>c</sup>	۰/۰۵۳ <sup>b</sup>	[h <sup>-1</sup> ] C
۰/۰۰۱	۰/۰۰۹۵	۱/۰۲۵ <sup>a</sup>	۰/۳۴۳ <sup>b</sup>	۰/۲۵۱ <sup>b</sup>	۰/۲۷۶ <sup>b</sup>	[h <sup>-1</sup> ] Lag
-	-	۱۲	۱۶	۱۶	۱۶	Halftime <sup>††</sup> (t <sub>1/2</sub> )
۰/۰۰۱	۴/۰۸۱	۶۸/۹۴ <sup>b</sup>	۷۷/۱۱ <sup>a</sup>	۵۸/۱۹ <sup>c</sup>	۷۹/۳۷ <sup>a</sup>	IVOMD <sub>T1/2</sub> %
۰/۰۰۱	۰/۱۷۹	۳/۶۵ <sup>bc</sup>	۴/۰۱ <sup>ab</sup>	۳/۴۳ <sup>c</sup>	۴/۳۳ <sup>a</sup>	PF <sub>OM</sub> mg/mL <sup>†††</sup>
۰/۰۰۱	۵/۳۳۱	۸۳/۲۱ <sup>b</sup>	۱۰۴/۴۳ <sup>a</sup>	۶۹/۲۵ <sup>c</sup>	۹۷/۰۷ <sup>a</sup>	MBP
۰/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۰۱۰	۰/۴۲ <sup>b</sup>	۰/۴۹ <sup>a</sup>	۰/۳۳ <sup>c</sup>	۰/۴۳ <sup>b</sup>	EMBP

<sup>†</sup>: جیره آزمایشی شامل (۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ (۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک اوره معمولی؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره آهسته رهش ابداعی (SRU Lab)؛ (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده 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)؛ <sup>††</sup>: زمانی است که نصف حجم گاز تولیدی کل در آن حاصل گردد؛ <sup>†††</sup>: 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 ≤ 0.05)

میزان ناپدید شدن CP، DM و NDF جیره‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن غیر پروتئینی طی ساعات مختلف انکوباسیون در شرایط برون‌تنی در جدول (۳) نشان داده شده است. بیش از ۵۰ درصد میزان ناپدید شدن ماده خشک جیره‌های آزمایشی بعد از ۱۲ ساعت انکوباسیون رخ داد. ناپدید شدن ماده 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 مکمل شده با اوره معمولی و محافظت شده با پلی‌اورتان 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 گاو میش‌های *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 ۰/۵، ۰/۱ 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). نظریه استفاده از اوره آهسته رهش در جیره دام‌های پرورشی به منظور 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 ماده خشک *SRU Lab* بر میزان ناپدید شدن مواد مغذی ممکن است به دلیل عمل صحیح پوشش‌دار کردن اوره باشد.

اسیدهای چرب فرّار (VFA) محصولات نهایی مهم تخمیر هستند که توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تولید می‌شوند. عواملی از قبیل ترکیب جیره، شرایط محیطی و جمعیت میکروبی بر محتوای و ترکیب VFA در شکمبه تأثیر می‌گذارند. 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 به طوری که غلظت نیتروژن آمونیاکی تولیدشده در محیط کشت‌های برون‌تنی برای دُزهای مختلف *SRU Lab* نسبت به اوره معمولی کم بود. مشخص شده است آمونیاک با تأثیر بر غلظت VFA و انتشار CO<sub>2</sub> 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/gDM) کمتر می‌باشد. بنابراین تولید گاز

کم، همراه با قابلیت هضم ماده آلی زیاد برای جیره‌های حاوی *SRU Lab* نسبت به اوره بدون پوشش نشان‌دهنده کارایی زیاد تخمیر در محیط کشت 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 (جدول ۲ و ۴). براساس گزارش‌های قبلی توسط دیگر محققان، تاثیر اوره آهسته رهش بر غلظت کل VFA متغیر و گوناگون می‌باشد. در برخی گزارش‌ها تاثیر اوره آهسته رهش بر غلظت کل VFA منفی عنوان شده است (Ran et al., 2021) و در برخی مطالعات نتایج مثبت و افزایشی گزارش شده 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 انجام شده 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 ۳. میزان ناپدید شدن ماده مغذی جیره‌های آزمایشی در شرایط برون‌تنی

سطح معنی- داری	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>۱</sup>			شاهد	ساعات انکوباسیون
		۳	۲	۱		
<b>ماده خشک (براساس درصد DM)</b>						
۰/۰۰۳	۲/۸۳۹	۴۰/۸۴ <sup>a</sup>	۴۳/۷۰ <sup>a</sup>	۳۳/۴۰ <sup>b</sup>	۴۲/۹۴ <sup>a</sup>	4h
۰/۶۸۲	۳/۱۸۶	۴۶/۲۱	۴۸/۲۱	۴۵/۴۹	۴۸/۸۵	8h
۰/۰۰۱	۳/۳۹۷	۵۵/۱۳ <sup>b</sup>	۵۸/۶۵ <sup>ab</sup>	۴۷/۴۸ <sup>c</sup>	۶۱/۰۰ <sup>a</sup>	12h
۰/۰۰۱	۵/۲۷۵	۶۶/۴۱ <sup>b</sup>	۶۹/۴۹ <sup>ab</sup>	۵۷/۰۷ <sup>c</sup>	۷۱/۶۳ <sup>a</sup>	24h
۰/۰۰۱	۳/۹۹۴	۷۲/۹۳ <sup>a</sup>	۷۶/۴۸ <sup>a</sup>	۶۳/۶۰ <sup>b</sup>	۷۶/۹۲ <sup>a</sup>	48h
<b>پروتئین خام (براساس درصد DM)</b>						
۰/۰۰۴	۲/۹۶۸	۳۰/۷۳ <sup>b</sup>	۳۶/۲۴ <sup>a</sup>	۲۰/۳۱ <sup>c</sup>	۳۸/۵۷ <sup>a</sup>	4h
۰/۰۰۱	۲/۸۵۳	۳۸/۸۸ <sup>b</sup>	۳۷/۳۰ <sup>b</sup>	۲۸/۸۲ <sup>c</sup>	۵۰/۸۱ <sup>a</sup>	8h
۰/۰۰۱	۳/۷۷۲	۵۴/۵۳ <sup>b</sup>	۵۴/۸۰ <sup>b</sup>	۴۰/۷۱ <sup>c</sup>	۶۴/۵۳ <sup>a</sup>	12h
۰/۰۰۱	۲/۷۲۸	۶۰/۵۰ <sup>b</sup>	۶۵/۰۴ <sup>a</sup>	۴۲/۹۰ <sup>c</sup>	۶۶/۲۴ <sup>a</sup>	24h
۰/۰۰۱	۳/۵۵۸	۷۲/۹۴ <sup>b</sup>	۷۵/۱۰ <sup>a</sup>	۵۹/۷۸ <sup>c</sup>	۷۷/۳۱ <sup>a</sup>	48h
<b>الیاف نامحلول در شوینده خنثی (براساس درصد DM)</b>						
۰/۳۳۲	۱/۱۱۶	۲۰/۲۵	۴۹۲۰ <sup>a</sup>	۱۹/۴۸	۲۱/۵۴	4h
۰/۵۱۸	۱/۲۴۸	۲۸/۴۵	۲۸/۵۲	۲۴/۰۲	۲۹/۶۲	8h
۰/۰۰۱	۲/۸۶۵	۳۲/۸۴ <sup>a</sup>	۳۴/۷۳ <sup>a</sup>	۲۷/۳۵ <sup>b</sup>	۳۵/۹۱ <sup>a</sup>	12h
۰/۰۰۰۱	۲/۴۲۶	۴۰/۸۴ <sup>a</sup>	۴۳/۷۰ <sup>a</sup>	۳۳/۴۰ <sup>b</sup>	۴۲/۹۴ <sup>a</sup>	24h
۰/۰۰۰۱	۳/۷۴۵	۴۶/۲۱ <sup>a</sup>	۴۹/۲۱ <sup>a</sup>	۳۹/۴۹ <sup>b</sup>	۴۹/۸۵ <sup>a</sup>	48h

<sup>۱</sup>: جیره آزمایشی شامل (۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ (۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک اوره معمولی؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره آهسته رهش ابداعی (*SRU Lab*)؛ (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده 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 ( $P \leq 0.05$ )

جدول ۴. غلظت کل اسیدهای چرب فرار (VFA) و نیتروژن آمونیاکی (NH<sub>3</sub>-N) حاصل از تخمیر جیره‌های آزمایشی در شرایط برون‌تنی

سطح معنی‌داری	SEM	جیره‌های آزمایشی <sup>†</sup>			شاهد	ساعات انکوباسیون
		۳	۲	۱		
نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در دسی لیتر)						
۰/۰۰۱	۰/۱۲۴	۴/۱۲ <sup>a</sup>	۴/۳۲ <sup>a</sup>	۵/۸۰ <sup>b</sup>	۵/۰۴ <sup>a</sup>	4h
۰/۲۵۷	۰/۳۶۷	۵/۱۰ <sup>c</sup>	۵/۱۴ <sup>c</sup>	۸/۰۹ <sup>a</sup>	۶/۵۰ <sup>b</sup>	8h
۰/۰۰۱	۰/۷۷۲	۸/۱۳ <sup>c</sup>	۸/۱۹ <sup>c</sup>	۱۰/۲۱ <sup>a</sup>	۹/۷۴ <sup>b</sup>	12h
۰/۰۰۱	۰/۹۲۱	۱۶/۳۳ <sup>b</sup>	۱۶/۸۷ <sup>b</sup>	۱۸/۱۱ <sup>a</sup>	۱۷/۱۳ <sup>a</sup>	24h
۰/۰۰۱	۱/۰۱۲	۲۰/۹۳ <sup>b</sup>	۱۹/۰۳ <sup>b</sup>	۲۳/۷۳ <sup>a</sup>	۲۰/۳۳ <sup>b</sup>	48h
کل اسیدهای چرب فرار (میلی مول در دسی لیتر)						
۰/۰۱۷	۰/۱۴۵	۴/۷۴ <sup>a</sup>	۴/۲۴ <sup>a</sup>	۳/۴۳ <sup>b</sup>	۴/۵۰ <sup>a</sup>	4h
۰/۰۰۱	۰/۳۷۲	۵/۲۵ <sup>ab</sup>	۶/۰۸ <sup>a</sup>	۳/۹۶ <sup>c</sup>	۵/۴۳ <sup>ab</sup>	8h
۰/۰۰۱	۰/۳۶۱	۷/۴۳ <sup>a</sup>	۷/۸۵ <sup>a</sup>	۵/۴۷ <sup>c</sup>	۶/۲۵ <sup>b</sup>	12h
۰/۰۰۱	۰/۱۱۵	۷/۹۳ <sup>a</sup>	۸/۷۴ <sup>a</sup>	۶/۳۳ <sup>b</sup>	۸/۸۹ <sup>a</sup>	24h
۰/۰۰۱	۰/۳۵۶	۹/۳۵ <sup>ab</sup>	۱۰/۲۴ <sup>a</sup>	۸/۲۱ <sup>b</sup>	۱۰/۴۶ <sup>a</sup>	48h

<sup>†</sup>: جیره آزمایشی شامل (۱) جیره بدون منبع اوره [شاهد]؛ (۲) جیره حاوی ۰/۳۸ درصد ماده خشک اوره معمولی؛ (۳) جیره حاوی ۰/۴۳ درصد ماده خشک اوره آهسته رهش ابداعی (SRU Lab)؛ (۴) جیره حاوی ۰/۸۶ درصد ماده 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 ≤ 0.05)

## نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد اوره آهسته رهش ابداعی (SRU Lab) از نظر نرخ آزادسازی اوره در انواع محلول‌های بافوری نسبت به اپتی ژن آهسته‌تر بود. همچنین روی سرعت و روند تخمیر، غلظت کل VFA، بازده تولید توده میکروبی و نیز قابلیت هضم ماده مغذی در شرایط برون‌تنی نسبت به جیره شاهد بدون منبع اوره تغییر قابل توجهی نداشت. مزایای بالقوه افزودن SRU Lab جهت بهبود قابلیت هضم آزمایشگاهی و تولید پروتئین میکروبی در این مطالعه مشهود بود. به‌طور کلی 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 بهمد رشد افزون البرز به دلیل فراهم نمودن زمینه اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

"هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

## 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.
- Ferre, 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-release 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.