



وزارت جهاد کشاورزی  
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی  
موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

اثر نسبت های مختلف ملاس در جیره های حاوی  
کود مرغی فرآوری شده بر گوارش پذیری و  
انرژی قابل متابولیسم خوراک در گوسفند

حسن فضائلی

وزارت جهاد کشاورزی

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

عنوان پروژه: اثر نسبت های مختلف ملاس در جیره های حاوی کود مرغی فرآوری شده بر گوارش پذیری و

انرژی قابل متابولیسم خوراک در گوسفند

شماره مصوب پروژه: ۹۱۱۷۰-۱۳-۱۳-۲

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرح های ملی و مشترک دارد):

نام و نام خانوادگی مجری/مجریان: حسن فضائلی

نام و نام خانوادگی ناظران: آقاشاهی علیرضا

نام و نام خانوادگی مشاور(ان):

نام و نام خانوادگی همکاران: نادر پاپی - احمد اکبری کله سری - ایوب عزیزی شتر خفت

محل اجرا: موسسه تحقیقات علوم دامی کشور

تاریخ شروع: بهمن ۱۳۹۱

مدت اجرا: ۱۸ ماه

ناشر:

شمارگان (تیراژ):

تاریخ انتشار:

این اثر در مورخ ۹۳/۱۰/۱۴ با شماره ۴۶۴۰۹ در مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی به ثبت رسیده است.

حق چاپ محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
۲	فصل اول (مقدمه)
۴	فصل دوم (مروری بر منابع)
۱۳	فصل سوم (مواد و روشها)
۲۲	فصل چهارم (نتایج و بحث)
۲۸	نتیجه گیری
۲۸	پیشنهادات
۲۹	فهرست منابع
۳۴	فصل پنجم (پیوست ها)
۴۲	چکیده به زبان انگلیسی

## چکیده

در این پژوهش اثر سطوح مختلف ملاس چغندر قند بر بازدهی استفاده از کود مرعی فراوری شده در جیره غذایی گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۳ جیره آزمایشی بر روی ۱۵ رأس گوسفند نر بالغ مغانی در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد آزمایش قرار گرفت. هر سه جیره حاوی ۲۶ درصد کاه گندم، ۲۶ درصد یونجه و ۲۴ درصد کود مرعی بودند اما ۲۴ درصد باقی مانده در جیره اول با استفاده از دانه جو و ذرت (هر کدام به میزان ۱۲ درصد) تامین شد و در جیره های ۲ و ۳ به ترتیب ۵ و ۱۰ درصد ملاس (بر حسب ماده خشک در کل جیره) به جای سهم جو و ذرت استفاده شد. جیره ها دارای انرژی قابل متابولیسم و پروتئین خام یکسان بودند. نتایج نشان داد که با افزودن ملاس، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جیره به طور خطی بهبود یافت ( $p < 0.05$ )، ولی گوارش پذیری ماده آلی، فیبر نامحلول در شوینده خنثی منهای خاکستر (NDFom)، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی منهای خاکستر (ADFom)، و گوارش پذیری ماده آلی در ماده خشک (DOMD) و نیز میزان انرژی قابل متابولیسم تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. به علاوه، مقادیر آلانتوئین، گزانتین به علاوه هیپوگزانتین، کل مشتقات پورینی دفع شده، کل مشتقات پورینی جذب شده و پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه، با مصرف ملاس در جیره به طور خطی افزایش یافت. مقدار pH و غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه با افزودن ملاس در جیره به طور خطی کاهش نشان داد، در حالی که مقدار بوتیرات شکمبه به طور خطی افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، پروپیونات، ایزووالرات، والرات و نسبت استات به پروپیونات در شکمبه تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. به جز غلظت نیتروژن اوره ای خون که با افزایش سطح ملاس در جیره به طور خطی کاهش یافت ( $p < 0.05$ )، جیره های آزمایشی تأثیری بر سایر متابولیت های خون نداشتند. در مجموع، مکمل کردن کود مرعی با ملاس تا سطح ۱۰ درصد ماده خشک جیره غذایی، به جای بخش غله جیره، اثر مطلوبی بر قابلیت هضم و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفند داشت.

واژه های کلیدی: ملاس، کود مرعی فراوری شده، قابلیت هضم، تخمیر شکمبه ای، گوسفند

## فصل اول

### مقدمه

کمبود خوراک دام، در بسیاری از مناطق جهان، طی نیم قرن اخیر، موجب بالا رفتن سهم هزینه تغذیه در دامپروری گردیده است و درآمدهای ناشی از تولید فرآورده‌های دامی را تحت تاثیر قرار داده است. به منظور جبران این کمبود، بهره‌گیری و عمل‌آوری مناسب از پس‌ماندها و تولیدات جنبی کشاورزی به عنوان خوراک در تغذیه نشخوارکنندگان برای بهبود تولیدات دامی امری اجتناب‌ناپذیر است (فضائلی، ۱۳۸۸). دستگاه گوارش چهار قسمتی ویژه نشخوارکنندگان و نیز هضم میکروبی در شکمبه آن‌ها توانایی مصرف و هضم پس‌ماندهای کشاورزی را فراهم نموده است (ایلیمام<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۹). در این زمینه تاکنون پژوهش‌های زیادی انجام گرفته است که از آن جمله عمل‌آوری و مصرف کود مرغی در تغذیه نشخوارکنندگان را می‌توان نام برد.

کود مرغی شامل فضولات طیور به همراه مواد مورد استفاده در کف سالن مرغداری می‌باشد که غنی از مواد نیتروژن دار بوده و نشخوارکنندگان می‌توانند از آن به خوبی استفاده کنند. علاوه بر این کود مرغی حاوی مقادیر قابل توجهی از مواد معدنی مورد نیاز دام‌ها از جمله کلسیم، فسفر، منیزیم، مس و روی بوده که در تامین نیازهای مواد معدنی دارای اهمیت می‌باشد. پرورش طیور گوشتی در کشور اغلب در کف سالن رایج می‌باشد. در این روش، کودی که در پایان دوره پرورش در سالن‌های جوجه‌های گوشتی به جا می‌ماند شامل مواد بستر (پوسته شلتوک، پوسته بادام زمینی، تراشه چوب، علوفه، باگاس، خاک اره، کاه و کاغذ)، فضولات پرنده، ریخت و پاش خوراک و تا حدودی نیز پر می‌باشد که در صورت انجام فراوری مناسب می‌تواند در تغذیه نشخوارکنندگان مورد استفاده قرار بگیرد.

با توجه به رشد سریع واحدهای مرغداری به صورت متمرکز در کشور سالانه حجم نسبتاً انبوهی از کود مرغی تولید می‌شود که حمل و نقل آن به صورت خام سبب انتشار عوامل بیماری‌زا شده و صنعت دام و طیور کشور را با مشکل مواجه می‌سازد که هزینه‌های سنگین بهداشتی و اقتصادی را در بر خواهد داشت. سالانه بیش از ۹۰۰ میلیون قطعه جوجه گوشتی در کشور پرورش داده می‌شود (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۹). اگر از هر قطعه جوجه گوشتی در طول دوره پرورش حدود ۱/۵ کیلوگرم کود خشک (شامل فضولات، مواد بستر، ریخت و پاش خوراک و پر) به دست آید، مجموع تولید کود خشک جوجه گوشتی در کشور، سالانه بیش از ۱/۴ میلیون تن تخمین زده می‌شود.

<sup>۱</sup> Elemam

حمل و انتقال کود مرغی به صورت خام، موجب بروز مشکلاتی می شود که عمل آوری مناسب کود مرغی می تواند در پیش گیری از مشکلات مزبور موثر باشد. بنا بر این با بهبود و دستیابی به روش مناسب مدیریت استفاده از این فراورده فرعی، می توان آلودگی های زیست محیطی را کاهش داده و به این طریق فرصت مناسبی را برای صنعت طیور و دامپروری فراهم نمود (رانکینز<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۲) و از مزایای کود مرغی (محتوای پروتئین خام و مواد معدنی نسبتا بالا) به عنوان خوراک نشخوار کنندگان استفاده نمود (جوردن<sup>۳</sup>، ۲۰۰۴). از آنجا که کود مرغی حاوی منابع نیتروژن دار غیر پروتئینی مانند اسید اوریک می باشد، استفاده از آن منوط به وجود هم زمان منابع انرژی زای سریع تخمیر شونده در محیط شکمبه می باشد. از طرفی کاربرد آن در تغذیه عملی دام، مشروط به عاری بودن از عوامل بیماری زای احتمالی خواهد بود. علاوه بر عمل آوری و سالم سازی، لازم است ارزش غذایی آن به منظور استفاده بهینه در تغذیه دام تعیین شود. از جمله محدودیت های مصرف سطوح بالای کود مرغی در جیره، محتوای انرژی کم به دلیل میزان خاکستر زیاد آن است.

طی سالیان گذشته پژوهش های قابل توجهی در زمینه کاربرد این ماده در تغذیه نشخوار کنندگان در جهان و پژوهش هایی نیز در ایران (شریفی، ۱۳۷۰؛ صالح طریق، ۱۳۸۸؛ فضائی و همکاران، ۱۳۸۹) انجام گرفته است و توصیه هایی نیز در جهت نحوه استفاده از آن در تغذیه دام انتشار یافته است. در پژوهش های قبلی (فضائی و همکاران، ۱۳۹۰؛ ۱۳۹۱) روش های عمل آوری کود مرغی مورد بررسی قرار گرفت و اثر کاربرد سطوح مختلف کود مرغی در خوراک پایه (مخلوط کاه و یونجه) بر مصرف اختیاری خوراک و گوارش پذیری درگوسفند مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، تعیین منبع انرژی و سطح بهینه آن به همراه مصرف کود مرغی در جیره غذایی ضروری تشخیص داده شد و پیشنهاد گردید که اثر مصرف ملاس چغندر توام با کود مرغی فراوری شده در جیره غذایی مورد بررسی قرار بگیرد. بنا بر این، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر سطح ملاس به همراه کود مرغی در جیره غذایی بر گوارش پذیری و انرژی قابل متابولیسم خوراک طراحی و اجرا شد.

---

<sup>۲</sup> Rankins

<sup>۳</sup> Jordan

## فصل دوم

### مروری بر منابع

#### ۱-۲- مروری بر ارزش غذایی کود مرغی

در زمینه ارزش غذایی کود مرغی در تغذیه نشخوارکنندگان تحقیقاتی انجام شده است (شریفی، ۱۳۷۰؛ مامبیل<sup>۴</sup>، ۲۰۰۰؛ دانیال و اولسن<sup>۵</sup>، ۲۰۰۵). کود مرغی عموماً در زمره خوراک‌های پروتئینی حجیم طبقه‌بندی می‌شود (کیچینگ<sup>۶</sup>، ۱۹۸۶). طبیعت قلیایی و نیز تعادل کاتیون-آنیون مثبت (پیوک<sup>۷</sup> و همکاران، ۱۹۹۴) منجر به افزایش ظرفیت بافری این فرآورده فرعی می‌گردد. در هر صورت، قبل از استفاده از کود مرغی در جیره غذایی بایستی ارزش غذایی آن تعیین شده و از نظر کیفیت و بهداشتی بودن آن نیز اطمینان حاصل شود. پایین بودن محتوی خاکستر خام در حد قابل قبول و عاری بودن از هر گونه جسم خارجی نیز از جمله موارد قابل توجه در مصرف کود مرغی به عنوان مکمل خوراک دام به شمار می‌روند. دامنه تغییرات ترکیب شیمیایی کود جوجه گوشتی در جدول ۱-۲ ارائه شده است.

از مهم ترین عوامل موثر بر ارزش غذایی کود مرغی می‌توان به نوع جیره غذایی مصرف شده در تغذیه طیور (فرگوسن<sup>۸</sup> و همکاران، ۱۹۹۸)، میزان آلودگی به گرد و خاک و مواد خارجی، نوع پرنده، تراکم طیور پرورش یافته و مدیریت گله (رفین و مکاسکی<sup>۹</sup>، ۱۹۹۳)، طول دوره و مدت زمان پرورش (گویتچ<sup>۱۰</sup> و همکاران، ۱۹۹۸)، نوع مواد استفاده شده به عنوان بستر (تراشه چوب، پوسته بادام زمینی، کاه، علوفه یا کاغذ) و روش فرآوری کود مورد نظر قبل از مصرف در تغذیه دام (المارسی و زرکاوی<sup>۱۱</sup>، ۱۹۹۹) اشاره نمود. از طرفی سن طیور در زمان برداشت کود و محتوای رطوبت آن نیز از عوامل تعیین کننده موثر بر ترکیب شیمیایی کود مرغی محسوب می‌شود.

#### ۲-۲- عمل آوری کود مرغی

مصرف بستر طیور در تغذیه دام ممکن است با خطرات احتمالی ناشی از باکتری‌هایی مانند کلستریدیوم‌ها و سالمونلا و باقی مانده مواد دارویی مورد استفاده در طول دوره پرورش (مانند آنتی بیوتیک و کوکسیدو استات، کبالت) همراه باشد. از این رو قبل از مصرف می‌بایستی اقدامات عمل آوری و سالم سازی بر روی آن انجام

<sup>4</sup> Mawimbela

<sup>5</sup> Daniel & Olson

<sup>6</sup> Kitching

<sup>7</sup> Pugh

<sup>8</sup> Ferguson

<sup>9</sup> Ruffin & McCaskey

<sup>10</sup> Goetsch

<sup>11</sup> Al-Marsi & Zarkawi

شود. بنابراین عمل آوری کود مرغی به منظور حذف عوامل بیماری زا، بهبود خصوصیات فیزیکی جهت سهولت حمل و نقل و حفظ یا افزایش خوش خوراکی آن امری ضروری به نظر می‌رسد (فونتنوت<sup>۱۲</sup>، ۲۰۰۰). از معمول ترین روش های عمل آوری، می توان به روش حرارتی اشاره نمود که طی آن مواد تحت فرآیند حرارت غیر مستقیم، با دمای مشخص و زمان مشخص فراوری شده به نحوی که ضمن حفظ ارزش غذایی آن، عوامل نامطلوب آن نیز از بین برود.

در مورد محتوای پروتئینی کود مرغی و مصرف آن در نشخوارکنندگان، تیمار حرارتی تحت شرایط بهینه سبب افزایش پروتئین عبوری از شکمبه می‌شود بدون اینکه اثر منفی بر روی قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش بگذارد. چندین روش برای عمل آوری حرارتی مواد خوراکی وجود دارد که این روش ها بر اساس ویژگی هایی همچون حضور یا عدم حضور رطوبت قابل تشخیص هستند.

فرآوری حرارتی مواد خوراکی، محلولیت و سرعت تجزیه پروتئین را در شکمبه کاهش می‌دهد. درجه حرارت و مدت زمان بیشتر، میزان نیتروژن نامحلول در شوینده اسیدی را از طریق تشکیل واکنش میلارد بین قندها و اسیدهای آمینه افزایش می‌دهد. اگرچه حرارت ملایم ممکن است سبب افزایش جریان پروتئین به روده شود اما حرارت دادن بیش از اندازه سبب کاهش کیفیت بعضی از اسیدهای آمینه و کاهش قابلیت هضم این مواد مغذی در روده کوچک می‌شود. در آزمایشی کاسویل<sup>۱۳</sup> و همکاران (۱۹۷۵) کود بستر جوجه های گوشتی را در مدت زمان های ۱۰، ۱۵، ۳۰ دقیقه اتوکلاو نموده و نشان دادند که اتوکلاو نمودن اثری بر میزان کل نیتروژن پروتئینی نداشت اما اتوکلاو در زمان های ۱۵ یا ۳۰ دقیقه نیتروژن غیر پروتئینی، نیتروژن اسید اوریکی و نیتروژن آمونیاکی را کاهش داد.

## ۲-۳- مصرف کود مرغی در تغذیه دام

آزمایش های متفاوتی در زمینه کاربرد کود مرغی در تغذیه دام صورت گرفته است. کاسویل و همکاران، (۱۹۷۵) قابلیت هضم پروتئین خام کود بستر جوجه گوشتی را در تغذیه گوسفند ۶۴/۸ تا ۶۷/۱ درصد گزارش نمودند. هم چنین پژوهشگران مزبور، در آزمایش دیگری (۱۹۷۷)، با تامین نمودن ۵۰ درصد نیتروژن جیره با کود بستر جوجه های گوشتی حاوی پوسته بادام زمینی، در تغذیه گوسفند، ضرایب هضم پروتئین خام را برای سطوح صفر، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد کود، به ترتیب ۷۱/۳، ۷۰/۴، ۶۸/۳ و ۵۷/۷ درصد گزارش نمودند. هارمون<sup>۱۴</sup> و همکاران (۱۹۷۴) روش های مختلف عمل آوری کود بستر جوجه گوشتی بر قابلیت هضم و مصرف نیتروژن در تغذیه بره ها را بررسی نمودند. تمام جیره ها حاوی علوفه خشک، چوب بلال و دانه ذرت و چهار منبع نیتروژن به شکل ذیل بود:

<sup>۱۲</sup> Fontenot

<sup>۱۳</sup> Caswell

<sup>۱۴</sup> Harrmon



۱- کود بستر اتو کلاو شده، ۲- کود بستر فراوری شده با حرارت خشک، ۳- اسید سولفوریک + فراوری با حرارت خشک، ۴- شاهد (کنجاله سویا). سطح نیتروژن هر ۴ جیره به یک میزان بود ولی در جیره های آزمایشی، ۵۰ درصد کل نیتروژن جیره با استفاده از کود مرغی تامین شد. ضرایب هضم ظاهری پروتئین خام برای جیره های ۱ تا ۴ به ترتیب ۵۹/۹، ۵۸/۶، ۵۶/۳، ۶۳/۳ درصد بود و ضرایب هضم ظاهری ماده خشک برای همین جیره ها به ترتیب ۶۶/۸، ۶۸/۸، ۶۵/۱، ۷۲/۹ درصد گزارش شد.

اسمیت<sup>۱۵</sup> و کاورت (۱۹۷۶) نیز با مقایسه فضولات خشک جوجه گوشتی و کنجاله سویا به عنوان مکمل نیتروژنه در تغذیه گوسفند قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و نیتروژن فضولات را به ترتیب ۶۵/۴ و ۶۵/۲ و ۶۶/۴ و برای کنجاله سویا به ترتیب ۶۵/۴، ۵۳/۷، ۵۷/۹ درصد گزارش نمودند و دریافتند که اختلاف معنی دار میان این دو تیمار وجود نداشت.

خلیل<sup>۱۶</sup> و همکاران (۱۹۹۵) اثر مصرف کود بستر خشک جوجه های گوشتی را بر قابلیت هضم، افزایش وزن زنده و ضرایب تبدیل غذایی گوساله های فریزین بررسی نمودند. به این منظور کود بستر در سطوح صفر، ۲۵ و ۵۰ درصد جایگزین کنسانتره گردید. هضم پذیری ماده آلی، پروتئین خام، چربی خام، الیاف خام و ان.اف.ای. به ترتیب برای جیره شاهد ۷۸، ۸۶/۹، ۸۱/۲۹، ۷۳/۹، ۸۴/۴ درصد؛ برای جیره ۲۵ درصد کود ۸۳/۶، ۸۶، ۸۷/۴۴، ۸۱/۵ و ۸۶/۶ و برای جیره ۵۰ درصد کود ۶۸/۳، ۷۷/۷، ۷۴/۹۴، ۶۹/۸، ۸۳/۵ درصد بود. متوسط ماده خشک مصرفی روزانه به ترتیب ۷/۸۵، ۸/۱۱، ۸/۱۸، کیلوگرم، ضریب تبدیل غذایی نیز به ترتیب ۹/۶۴، ۸/۹۱، ۸/۵۱ بود. افزایش وزن روزانه در طول دوره آزمایشی بین جیره ها معنی دار نبود.

آریلی<sup>۱۷</sup> و همکاران (۱۹۹۱) مدت زمان عادت پذیری به مصرف کود مرغی را در تلیسه های فریزین با جیره های حاوی سطوح صفر، ۱۷/۵ و ۳۵ درصد کود بستر طیور (به صورت سیلو شده) برای مدت ۷ هفته مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که قابلیت هضم ماده خشک در هفته اول کاهش و سپس به تدریج افزایش یافت تا با جیره شاهد یکسان شد.

یاشیم<sup>۱۸</sup> و همکاران (۲۰۰۸) اثر مصرف علوفه سورگوم به همراه کود جوجه گوشتی را روی مصرف خوراک، قابلیت هضم ماده خشک و تغییرات وزن زنده گاوهای گوشتی در حال رشد بررسی نمودند. برای این منظور، ۵۰ راس گاو گوشتی ۱۸ تا ۲۴ ماهه با وزن ۱۱۵ کیلوگرم استفاده شد. نتایج نشان داد که با مصرف کود طیور مصرف ماده خشک، قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و پروتئین افزایش یافت. دام هایی که فقط علوفه سورگوم مصرف کرده بودند کاهش وزن داشتند، در حالی که افزودن کود مرغی سبب افزایش وزن دام ها گردید.

<sup>15</sup> Smith

<sup>16</sup> Khalil

<sup>17</sup> Arieli

<sup>18</sup> Yashim

اوبیدات<sup>۱۹</sup> و همکاران (۲۰۱۱) اثر کود جوجه گوشتی را در جیره بره‌های آواسی بررسی نمودند. برای این منظور سه جیره آزمایشی حاوی صفر، ۱۰ و ۲۰ درصد کود جوجه گوشتی مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان مصرف مواد مغذی شامل: ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، فیبر نامحلول در شوینده خنثی (NDF) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) در بین تیمارها مشابه بود اما قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی، NDF و ADF در جیره حاوی ۲۰ درصد کود مرغی کاهش نشان داد. علاوه بر این، مصرف کود جوجه گوشتی در جیره غذایی بر میزان افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل غذایی تاثیری نداشت.

تالیب<sup>۲۰</sup> و همکاران (۲۰۰۸) اثر سطوح مختلف کود طیور (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد کنسانتره جیره) تلبار شده را در تغذیه گوساله های بومی (زیبو) بررسی کردند. افزایش وزن روزانه با جایگزینی کود طیور تا ۴۰ درصد، تحت تاثیر قرار نگرفت و در سطح ۶۰ درصد کاهش یافت اما ماده خشک مصرفی و خوش خوراکی با تغذیه کود طیور فراوری شده تحت تاثیر قرار نگرفت.

کروس<sup>۲۱</sup> و همکاران (۱۹۷۸) نسبت های مختلف کود مرغی را به همراه علوفه ذرت سیلو نموده و محصول به دست آمده را با ۳۰ درصد کنسانتره در تغذیه گوساله های گوشتی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که افزایش وزن روزانه گوساله های دریافت کننده سیلاژ حاوی ۳۰ درصد کود جوجه گوشتی بیشترین مقدار بود. تغذیه سیلاژ حاوی کود جوجه گوشتی اثرات زیان آوری روی خصوصیات لاشه نداشت و قیمت جیره غذایی برای افزایش یک کیلوگرم وزن زنده تقریباً ۲۳ درصد کاهش یافت.

ایلمام و همکاران (۲۰۰۹) جیره های حاوی صفر، ۵، ۳۰ و ۴۵ درصد کود جوجه گوشتی را در تغذیه ۳۰ راس بره با وزن اولیه ۳۲ کیلوگرم مورد آزمایش قرار داده و دریافتند که مصرف مواد مغذی (ماده خشک، ماده آلی، پروتئین خام، NDF، ADF) و قابلیت هضم جیره های غذایی تا سطح ۳۰ درصد کود مرغی مشابه بود اما در سطح ۴۵ درصد کاهش یافت. افزایش وزن روزانه و بازده غذایی نیز با مصرف جیره حاوی ۴۵ درصد کود مرغی کاهش معنی داری را نشان داد.

خان<sup>۲۲</sup> و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه ای اثر تغذیه کود جوجه گوشتی و کود مرغ تخمگذار را بر مصرف خوراک و افزایش وزن گوساله های در حال رشد و قیمت خوراک بررسی نمودند. همه حیوانات با کاه برنج و علوفه سبز به صورت آزاد و ۲۵ درصد کنسانتره تغذیه شدند. کنسانتره ها به ترتیب شامل صفر، ۲۰ و ۴۰ درصد بستر جوجه گوشتی و یا صفر، ۲۰ و ۴۰ درصد کود مرغ تخم گذار بود. نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی دار بین تیمارها بود.

<sup>19</sup> Obeidata

<sup>20</sup> Talib

<sup>21</sup> Cross

<sup>22</sup> Khan

در مطالعه تسادیک<sup>۲۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) جیره های حاوی نسبت های صفر، ۱۴، ۲۸ و ۴۵ درصد کود طیور در تغذیه بزهای نر مورد بررسی قرار گرفت. میزان مصرف روزانه خوراک (برحسب ماده خشک) با جایگزین کردن کود جوجه گوشتی تا ۲۸ درصد جیره به طور معنی داری افزایش یافت ولی سطح ۴۵ درصد کود، نتیجه عکس داشت. افزایش وزن بدن نیز در جیره حاوی ۴۵ درصد کود، کاهش یافت.

### ۲-۳-۱- ترکیب منبع نیتروژنی کود مرغی

اسید اوریک و پروتئین های هضم نشده دو بخش مهم از اجزای فضولات طیور می باشند. به دلیل فقدان آنزیم آرژیناز کبدی در پرندگان (یکی از مهم ترین آنزیم های چرخه اوره در حیوانات)، چرخه اوره در بدن آنها وجود ندارد. بنابراین اوره در پرندگان یا سنتز نشده و یا به مقدار اندکی تولید می شود (آندروود<sup>۲۴</sup>، ۱۹۷۱). نیتروژنی که از تجزیه بازهای آدنین و گوانین ایجاد می شود، به شکل اسید اوریک [پرندگان به دلیل نداشتن آنزیم یوریکاز (Uricase) قادر به تجزیه اسید اوریک نیستند] بوده و بخش عمده نیتروژن دفعی طیور را شامل می شود (ورایت<sup>۲۵</sup>، ۱۹۹۵).

سهم اسید اوریک و نیتروژن هضم نشده در مدفوع به مقدار زیادی تحت تاثیر جیره حیوان قرار دارد. عواملی مانند جیره های با قابلیت هضم پایین، حضور عوامل ضد تغذیه ای نظیر منابع فیبری متفاوت، مهار کننده های تریپسین، کیموتریپسین، لسیتین، ترکیبات فنولیک، تانن ها، ضریب تبدیل گونه های مختلف، سن حیوان، مواد بستر و آب مصرفی نیز بر محتوای نیتروژن مدفوع طیور تاثیر دارند (ناهم<sup>۲۶</sup>، ۲۰۰۳). طی مطالعاتی مشخص شد که میکروارگانیسم های شکمبه نشخوارکنندگان توانایی استفاده از منابع نیتروژن غیر پروتئینی مانند اسید اوریک با بازدهی مناسب را دارند (چرچ<sup>۲۷</sup>، ۱۹۷۹). مطالعات زیادی برتری پروتئین طبیعی بر اوره را در جیره های با مواد خشبی بالا بر سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه نشان داده است. این پدیده می تواند به این علت باشد که آبکافت (هیدرولیز) اوره به آمونیاک در مقایسه با پروتئین طبیعی سریع تر از تبدیل ترکیبات لیگنوسلولوزی به کتواسیدهای ضروری (مورد نیاز جهت سنتز پروتئین میکروبی) می باشند که نتیجه آن دفع مقدار زیادی اوره از طریق ادرار است (سوینگل<sup>۲۸</sup> و همکاران، ۱۹۷۷). زین<sup>۲۹</sup> و همکاران (۱۹۹۶) برآورد کردند که حدود ۹۶ درصد اسید اوریک در شکمبه تجزیه می شود. در مقایسه با سایر منابع نیتروژن غیر پروتئینی، تعداد میکروب های کمتری قادرند اسید اوریک را به عنوان سوسترا مورد تجزیه قرار دهند (جخمولا<sup>۳۰</sup> و همکاران، ۱۹۸۸). این امر سبب می شود تا اسید اوریک موجود در کود مرغی با سرعت آهسته تری نسبت به اوره تجزیه گردد و آمونیاک به آهستگی آزاد

<sup>23</sup> Tsadik

<sup>24</sup> Underwood

<sup>25</sup> Wright

<sup>26</sup> Nahm

<sup>27</sup> Church

<sup>28</sup> Swingle

<sup>29</sup> Zinn

<sup>30</sup> Jakhmola

می شود که می تواند با روند مناسبی در اختیار میکروبها قرار گیرد. بازتاب این امر بالا رفتن بهره‌وری آمونیاک بوده که سبب کاهش میزان ورود آمونیاک به خون و کاهش مسمومیت احتمالی با آمونیاک می شود (چرچ و همکاران، ۱۹۷۹).

## ۲-۳-۲- تاثیر کود مرغی بر pH شکمبه

مقدار pH شکمبه تحت تاثیر زمان خوراک دادن (هیندریشن و همکاران<sup>۳۱</sup>، ۲۰۰۲) و غلظت اسیدهای چرب تولیدی در مایع شکمبه قرار می گیرد (سیندر و همکاران<sup>۳۲</sup>، ۲۰۰۶) فرار). همچنین، تفاوت در مقدار فیبر و بخش‌های پروتئین جیره‌های غذایی، جمعیت میکروبی و به دنبال آن تولیدات تخمیری شکمبه را تغییر داده، که منجر به تغییرات pH و غلظت آمونیاک شکمبه می‌شود (میرچن<sup>۳۳</sup>، ۱۹۸۸).

تغییرات pH شکمبه با بکارگیری کود مرغی در جیره نتایج متناقضی به دنبال داشته است. به عنوان مثال، در آزمایشی با جایگزین کردن ۲۰ درصد بخش کنسانتره با کود مرغی در جیره گوساله، مقدار pH شکمبه افزایش نشان داده است (کولیسن<sup>۳۴</sup> و همکاران، ۱۹۷۶). هم چنین، مصرف کود مرغی به میزان ۳۵ درصد در جیره غذایی، در مقایسه با جیره شاهد، در تغذیه گوساله‌های نژاد آنگوس، افزایش معنی‌دار مقدار pH شکمبه را در پی داشته است (کپوسیل<sup>۳۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). در گزارش دیگری (آیبی<sup>۳۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۴) مقدار pH شکمبه گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی کود مرغی افزایش داشته است. بر خلاف گزارشات بالا، بر اساس پژوهش مویا<sup>۳۷</sup> و همکاران (۲۰۰۱) با مکمل کردن علوفه گراس با مقادیر ۰/۹۱، ۳/۶۵ و ۶/۳۵ کیلوگرم کود مرغی به صورت روزانه، مقدار pH مایع شکمبه در گوساله‌های هلشتاین روند کاهشی نشان داد. در آزمایش مشابه دیگری که توسط نیگیسی<sup>۳۸</sup> و همکاران (۲۰۰۷) بر روی گوزن اسپانیایی انجام شد، با افزایش سطح کود مرغی در جیره غذایی، مقدار pH روند کاهشی نشان داد. کاهش مقدار pH شکمبه با استفاده از کود مرغی در جیره بره پرواری (ایلمام و همکاران، ۲۰۰۹) نیز گزارش شده است. به طور کلی، جایگزینی کود مرغی با علوفه در بیشتر آزمایش‌های انجام شده، کاهش مقدار pH شکمبه را به دنبال داشته است که احتمالاً می تواند به دلیل افزایش خوراک مصرفی (کلارک<sup>۳۹</sup> و همکاران، ۱۹۹۲) و کاهش نسبت NDF موثر و در نتیجه کاهش ترشح بزاق (فینگ<sup>۴۰</sup> و همکاران، ۱۹۹۳) بوده باشد.

<sup>31</sup> Hindrichsen

<sup>32</sup> Synder

<sup>33</sup> Merchen

<sup>34</sup> Cullison

<sup>35</sup> Capucille

<sup>36</sup> Abebe

<sup>37</sup> Muia

<sup>38</sup> Negesse

<sup>39</sup> Clark

<sup>40</sup> Feng

### ۲-۳-۳- تاثیر کود مرغی بر تولید آمونیاک در شکمبه:

از تجزیه پروتئین‌ها در شکمبه، آمونیاک و اسیدهای آمینه تولید می‌شوند که منبع نیتروژن برای رشد میکروبی هستند. بیش از ۵۰ درصد نیتروژن کود مرغی از نوع اسید اوریک بوده (بهاتا چاریا و تایلر<sup>۴۱</sup>، ۱۹۶۵) که توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه به آهستگی درمقایسه با اوره به آمونیاک تبدیل می‌شود (اولتجین<sup>۴۲</sup> و همکاران، ۱۹۶۸). به منظور بهبود خوراک مصرفی و قابلیت هضم، غلظت آمونیاک مایع شکمبه می‌بایستی در دامنه ۱۰ تا ۳۰ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر مایع شکمبه باشد (مکدونالد<sup>۴۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۲) هر چند که دامنه ۵ تا ۲۴ میلی‌گرم نیز ذکر شده است (بووچیر<sup>۴۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۷). تغذیه کود مرغی در جیره نشخوارکنندگان به دلیل محتوای نیتروژن غیر پروتئینی زیاد (بیشتر از نوع اسید اوریک)، سبب افزایش غلظت آمونیاک در مایع شکمبه می‌شود. با مکمل کردن علوفه گراس با سطوح مختلف کود مرغی، غلظت آمونیاک مایع شکمبه با افزایش سطح کود مرغی در جیره (به دلیل افزایش مصرف پروتئین خام نسبت به ماده آلی) افزایش نشان داده است (مویا و همکاران، ۲۰۰۱). در یک آزمایش مقایسه‌ای بین کنجاله آفتابگردان و کود مرغی به عنوان بخشی از کنسانتره گوساله‌های هلشتاین، غلظت آمونیاک مایع شکمبه در جیره حاوی کود، به دلیل سرعت تجزیه‌پذیری بیشتر نیتروژن در شکمبه، بیشتر از جیره حاوی کنجاله آفتابگردان بود (مویا و همکاران، ۲۰۰۱). غلظت آمونیاک مایع شکمبه با جایگزینی کود مرغی با بخش کنسانتره جیره شاهد در گوساله‌های آنگوس (کپوسیلی و همکاران، ۲۰۰۴) و هلشتاین (بیونتینگ<sup>۴۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۲)، به طور معنی‌داری بیشتر گزارش شده است؛ که علت آن وجود مقادیر زیاد نیتروژن محلول و انرژی قابل تخمیر پایین در جیره حاوی کود بوده است (پاتیل<sup>۴۶</sup> و همکاران، ۱۹۹۵). نتایج مشابهی نیز برای سایر منابع نیتروژن غیر پروتئینی گزارش شده است (ون هوتیرت<sup>۴۷</sup>، ۱۹۹۳).

### ۲-۳-۴- تاثیر کود مرغی بر اسیدهای چرب فرار شکمبه

غلظت کل اسیدهای چرب فرار شدیداً تحت تاثیر نوع جیره و زمان طی شده پس از آخرین وعده غذا قرار می‌گیرد ولی در حالت طبیعی محدوده آن بین ۷۰ تا ۱۵۰ میلی‌مول در لیتر مایع شکمبه است (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۲). غلظت کل اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه گوساله‌های هلشتاین در جیره‌ای که ۵۵ درصد کود مرغی جایگزین بخشی از جیره شاهد (کنجاله سویا، دانه ذرت و علوفه پنبه دانه) گردید، روند کاهشی نشان داد (بیونتینگ و همکاران، ۲۰۰۲). علت آن را می‌توان به وجود مقادیر بیشتر کربوهیدرات‌های قابل تخمیر در جیره شاهد، نسبت به جیره حاوی کود مرغی مربوط دانست. در آزمایش مذکور غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک

<sup>41</sup> Bhattacharya & Taylor

<sup>42</sup> Oltjen

<sup>43</sup> McDonald

<sup>44</sup> Boucher

<sup>45</sup> Bunting

<sup>46</sup> Patil

<sup>47</sup> Van Houtert

در جیره حاوی کود نسبت به جیره شاهد به ترتیب بیشتر و کمتر شد که به علت مقدار فیبر بیشتر در جیره حاوی کود می‌باشد. همچنین، با جایگزین کردن ۳۵ درصد کود مرغی با بخش کنسانتره (کنجاله سویا و پنبه دانه) در جیره گوساله‌های آنگوس، غلظت کل اسیدهای چرب فرار به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی غلظت اسید استیک و اسید پروپیونیک تحت تاثیر قرار نگرفت (کاپوسیلی و همکاران، ۲۰۰۴).

#### ۲-۳-۵- اثر کود مرغی بر سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه

فعالیت میکروبی در شکمبه در واقع توانایی تبدیل خوراک‌های فیبری با کیفیت پروتئین پایین، حتی نیتروژن غیر پروتئینی به مواد مغذی ارزشمند برای نشخوارکنندگان می‌باشد. بیش از نیمی از اسیدهای آمینه جذب شده توسط حیوان نشخوارکننده و معمولاً دو سوم تا سه چهارم آن از پروتئین میکروبی مشتق می‌گردد (AFRC, 1992). عوامل مختلفی در موثر بودن ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی جهت سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه موثر بوده که عبارتند از: ماده خشک مصرفی، انرژی قابل تخمیر جیره و نوع کربوهیدرات‌ها (نسبت کربوهیدرات‌های ساختمانی به غیر ساختمانی)، غلظت نیتروژن جیره و نسبت نیتروژن قابل تجزیه به نیتروژن غیر قابل تجزیه در شکمبه، هم زمانی بین آزادسازی انرژی و نیتروژن جیره، میزان گوگرد، فسفر و سایر مواد معدنی مورد نیاز میکروب‌ها و عادت‌پذیری میکروب‌های شکمبه به استفاده از ترکیبات نیتروژن غیر پروتئینی (ارسکو<sup>۴۸</sup>، ۱۹۹۲ و ونسو<sup>۴۹</sup>، ۱۹۹۴).

همانگی در آزادسازی نیتروژن آمونیاکی و انرژی قابل استفاده در شکمبه، بازدهی استفاده از نیتروژن را بهبود می‌بخشد (سلتر<sup>۵۰</sup> و همکاران، ۱۹۷۹). هم زمانی برای تخمیر سریع با مقادیر زیاد نشاسته قابل تخمیر و منابع پروتئینی در مقایسه با عدم همزمانی، باعث تولید و عبور مقادیر بیشتری پروتئین میکروبی به دودنوم می‌شود (سیئو<sup>۵۱</sup> و همکاران، ۲۰۱۰). در بین گونه‌های مختلف میکروبی در شکمبه، تعداد میکروارگانیزم‌های کمتری قادرند اسید اوریک را تجزیه کنند (جخمولا و همکاران، ۱۹۸۸). نیتروژن (اسید اوریک) موجود در کود طیور در مقایسه با پروتئین طبیعی خوراک سریع‌تر و نسبت به او به طور آهسته‌تری در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود. این خود باعث کاهش مسمومیت با آمونیاک و بهبود راندمان بکارگیری از آمونیاک در مقایسه با او به می‌گردد که در نتیجه موجب سنتز پروتئین میکروبی بیشتری می‌شود (مکدونالد و همکاران، ۲۰۰۲).

اولین فاکتور محدود کننده رشد میکروبی در شکمبه انرژی است (سلتر و همکاران، ۱۹۷۹) این در حالی است که کود مرغی از نظر انرژی کمبود دارد (ونرا<sup>۵۲</sup>، ۲۰۰۰). بنابراین، در زمان تغذیه سطوح بالای کود طیور در جیره غذایی، معمولاً ملاس به عنوان یک منبع انرژی به آسانی قابل دسترس به آن اضافه می‌شود تا باکتری‌های شکمبه

<sup>48</sup> Orskov

<sup>49</sup> Van Soest

<sup>50</sup> Salter

<sup>51</sup> Seo

<sup>52</sup> Van Ryssen

بتوانند از غلظت زیاد نیتروژن کود حداکثر بازدهی را برای تولید پروتئین میکروبی داشته باشند (مومبیللا و همکاران، ۱۹۹۷).

#### ۲-۳-۶- تاثیر کود مرغی بر متابولیت‌های خون

بررسی تاثیر کود مرغی بر فراسنجه‌های خونی نشخوارکنندگان مخصوصا نیتروژن اوره‌ای و اسید اوریک خون به خاطر احتمال مسمومیت با آمونیاک اهمیت ویژه‌ای دارد. بنابراین مکمل کردن کود مرغی با منابع سهل الهضم انرژی در جیره ضروری به نظر می‌رسد. انتظار می‌رود سطح نیتروژن اوره‌ای خون با بکارگیری کود مرغی در جیره افزایش یابد. نیتروژن اوره‌ای خون در بزهای تغذیه شده با کود مرغی، افزایش معنی‌داری را در مقایسه با جیره شاهد نشان داده است (میکاشا<sup>۵۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۴). در آزمایش دیگری (نیگیسی و همکاران، ۲۰۰۷) روی گوزن‌های اسپانیایی، با افزایش جایگزینی کود مرغی تا ۶۰ درصد کنسانتره، غلظت نیتروژن اوره‌ای پلاسما به طور معنی‌داری نسبت به جیره شاهد و جیره‌های با سطح کم‌تر کود مرغی، بیشتر شد. جایگزینی کود مرغی با منابع پروتئینی جیره در گوساله‌های هلشتاین نیز باعث افزایش معنی‌دار نیتروژن اوره‌ای پلاسما و کاهش معنی‌داری در سطح گلوکز پلاسما شد (بیوتینگ و همکاران، ۲۰۰۲). علت کاهش غلظت گلوکز پلاسما، کاهش تولید کل اسیدهای چرب فرار و همچنین اسید پروپیونیک در جیره حاوی کود در آزمایش مذکور بوده است. در مطالعات دیگری، بکارگیری کود مرغی در جیره شتر، اثری بر کل پروتئین خون، آلومین، گلوکز و کلسترول نداشته ولی غلظت نیتروژن اوره‌ای خون و اسید اوریک افزایش معنی‌داری نشان داده است (ناصر و فتحی، ۲۰۱۰) که احتمالا به خاطر محتوای نیتروژن غیر پروتئینی بالای کود مرغی بوده است. در مقایسه کارایی نیتروژن کود مرغی با اوره نیز پژوهشگران (ریودی<sup>۵۴</sup> و همکاران، ۱۹۹۴)، نشان دادند که نیتروژن اوره‌ای خون در گوسفندان تغذیه شده با کود مرغی با روش‌های مختلف فرآوری، به طور معنی‌داری کمتر بود ولی پروتئین خون و آلومین تحت تاثیر قرار نگرفت.

<sup>53</sup> Mekasha

<sup>54</sup> Rude

## فصل سوم

### مواد و روش ها

#### ۳-۱- عمل آوری کود مرغی

عمل آوری کود مرغی با هدف سالم سازی آن (از نظر میکروارگانیسم های شاخص) در کارگاه (پایلوت) احداث شده در حومه شهرستان سبزوار انجام شد. توضیح این که کارگاه مزبور در پی موفقیت هایی که طی پژوهش های قبل در خصوص عمل آوری کود مرغی در مقیاس آزمایشگاهی به دست آمده بود، با ظرفیت ۱۰ تن در روز احداث گردید.

در این مرحله، ابتدا کود مرغی به اندازه مورد نیاز، از یک سالن جوجه گوشتی تهیه گردید و تحت فرآیند حرارتی، عمل آوری شد. عمل آوری، به صورت حرارت غیر مستقیم و با استفاده از فشار بخار آب در مخزن دو جداره انجام شد. حرارت در قسمت داخلی مخزن یعنی محلی که کود تحت فرآیند قرار می گرفت بین ۷۵ تا ۸۵ درجه سانتیگراد تنظیم شد (فضائلی و همکاران، ۱۳۸۹). مراحل کار به این صورت بود که کود تهیه شده مورد بازرسی ظاهری قرار گرفت و اجسام خارجی احتمالی موجود در آن (سنگ، تکه های چوب، شیشه و ...) جداسازی شد و سپس، در حین عبور از مجرای حلزونی به دستگاه پخت و نیز تولید بخار و نفوذ آن در توده کود، طی عمل پخت) به آن رطوبت اضافه شد (با هدف تامین رطوبت حدود ۲۳ درصد). آنگاه از طریق مسیر انتقال دهنده حلزونی شکل به مخزن ذخیره موقت در نزدیک مخزن پخت وارد شده و از آن جا نیز پس از بازبینی مجدد و جداسازی اجسام خارجی وارد مخزن می گردید. جریان ورود و خروج کود به داخل مخزن به صورت متوالی انجام می گرفت به نحوی که از زمان ورود تا خروج به مدت ۲۰ دقیقه به طول می انجامید که طی آن رطوبت داخل کود به حالت بخار تبدیل می شد. کود حرارت دیده از مخزن خارج و به صورت جریان مداوم بلافاصله وارد ماشین پرس شده و به حالت تکه های فشرده شده خارج می گردید. تکه های کود طی عبور از مسیر انتقال دهنده حلزونی که به آسیاب منتهی می شد، تا حد زیادی حرارت خود را از دست داده و سپس آسیاب می شد. کود آسیاب شده پس از خنک شدن بسته بندی و به محل انجام آزمایش (ایستگاه تحقیقات موسسه تحقیقات علوم دامی کشور واقع در کرج) انتقال داده شد.

قبل از مصرف کود عمل آوری شده در جیره های غذایی آزمایشی، از آن نمونه برداری به عمل آمد و از نظر بهداشتی (کلی فرم ها، سالمونلا و اشرشیا کلای) مورد بررسی قرار گرفت (روح بخش، ۱۳۶۹) و مشخص شد که عاری از عوامل مذکور است. هم چنین ترکیب مواد مغذی نمونه های کود عمل آوری شده در آزمایشگاه تعیین گردید و از اطلاعات به دست آمده جهت تنظیم جیره های آزمایشی استفاده شد. ترکیب شیمیایی کود مرغی فراوری شده در جدول ۳-۱ آورده شده است.



جدول ۳-۱: میانگین و انحراف معیار (SD) ترکیب شیمیایی کود مرغی فرآوری شده مورد استفاده در آزمایش

اجزای شیمیایی	SD ± میانگین (تعداد ۴ نمونه)
ماده خشک (در صد)	۹۳±۰/۷۱
پروتئین خام (درصد در ماده خشک)	۲۳/۸±۰/۵۲
<sup>۱</sup> NPN (درصد از کل پروتئین خام)	۴۵/۱±۱/۴
<sup>۲</sup> TP (درصد از کل پروتئین خام)	۵۴/۹±۱/۴
چربی خام (درصد در ماده خشک)	۲/۲۴±۰/۰۱
<sup>۳</sup> NDFom (درصد در ماده خشک)	۳۵/۳±۰/۴۹
<sup>۴</sup> ADFom (درصد در ماده خشک)	۱۸/۵±۰/۲۳
لیگنین (درصد در ماده خشک)	۷/۵±۰/۲۱
خاکستر خام (درصد در ماده خشک)	۱۸/۴±۰/۶۲

۱- نیتروژن غیر پروتئینی، ۲- پروتئین حقیقی، ۳- فیبر نا محلول در شوینده خنثی منهای خاکستر،  
۴- فیبر نا محلول در شوینده اسیدی منهای خاکستر،

### ۳-۲- حیوانات مورد استفاده

آزمایش بر روی ۱۵ راس گوسفند نر بالغ مغانی، با وزن متوسط  $۶۳ \pm ۲/۳$  کیلوگرم و سن ۳/۵ سال که در شرایط نسبتاً یکنواخت در ایستگاه موسسه تحقیقات علوم دامی کشور نگهداری می‌شدند و از سلامت کامل برخوردار بودند، انجام شد.

### ۳-۳- جیره‌های غذایی مورد آزمایش

نیاز غذایی روزانه گوسفندان، بر اساس جداول احتیاجات غذایی مشاور تحقیقات ملی<sup>۵۵</sup> (۲۰۰۷) برآورد گردید و جیره‌های آزمایشی مورد نظر تنظیم شد. سه جیره غذایی بر پایه کاه گندم و یونجه خشک (به نسبت ۲۶ : ۲۶ درصد)، و نسبت ثابت ۲۴ درصد کود مرغی در هر کدام، تنظیم شد. اجزای تشکیل دهنده جیره‌ها یکسان بود، به جز این که در جیره‌های آزمایشی از سطوح ۵ و ۱۰ درصد ملاس چغندر قند (بر حسب ماده خشک کل جیره غذایی) به جای بخشی از غلات جیره (مخلوط ذرت و جو) استفاده شد. اقلام مواد خوراکی، ترکیب شیمیایی و محتوای انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی در جدول ۳-۲ ارائه شده است.

### ۳-۴- مدیریت نگهداری و تغذیه دام‌ها

قبل از شروع آزمایش به همه گوسفندان قرص‌های ضد انگل خوراندن شد. برای نوردی سالن پرورش، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال شد. در آغاز تحقیق، دام‌ها به صورت تصادفی در قفس‌های متابولیکی انفرادی، مجهز به سیستم‌های مجزای برای جمع‌آوری ادرار و مدفوع توزیع شدند. طول دوره آزمایش

<sup>55</sup> National Research Council (NRC)

۲۸ روز، شامل ۲۱ روز عادت‌پذیری دام‌ها به جیره‌های آزمایشی و قفس‌های متابولیکی و ۷ روز جمع‌آوری نمونه بود. جیره‌های آزمایشی دوبار در روز (۸ صبح و ۴ بعد از ظهر) در اختیار حیوانات قرار گرفت و آب آشامیدنی و بلوک‌های مواد معدنی-ویتامینی در طول شبانه‌روز به صورت آزاد در دسترس دام‌ها بود.

جدول ۳-۲: درصد اقلام خوراکی، ترکیب شیمیایی و انرژی قابل متابولیسم درجیره‌های آزمایشی

سطح ملاس در جیره (درصد)			اقلام خوراکی
۱۰	۵	صفر	
۲۶	۲۶	۲۶	یونجه
۲۶	۲۶	۲۶	کاه گندم
۲۴	۲۴	۲۴	کود مرغی فرآوری شده
۷	۹/۵	۱۲	ذرت
۷	۹/۵	۱۲	جو
۱۰	۵	-	ملاس چغندر قند
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	کل
			ترکیب شیمیایی (درصد)
۹۲/۷	۹۲/۹	۹۳	ماده خشک
۱۲/۱	۱۲/۳	۱۲/۵	پروتئین خام
۴۰/۵	۴۱/۵	۴۳	<sup>۱</sup> NDFom
۲۶	۲۶/۷	۲۷/۱	<sup>۲</sup> ADFom
۶/۲	۶/۳۳	۶/۴۵	لیگنین
۱۱/۱	۱۰/۶	۱۰/۱۰	خاکستر خام
۰/۶۶	۰/۶۵	۰/۶۵	کلسیم
۰/۳۱	۰/۳۳	۰/۳۳	فسفر
۸/۸۸	۸/۹۵	۸/۹۹	انرژی قابل متابولیسم <sup>۳</sup> (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)

۱- دیواره سلولی فاقد خاکستر، ۲- دیواره سلولی منهای همی سلولز فاقد خاکستر، ۳- بر اساس جداول (NRC, 2007) محاسبه گردید.

### ۳-۵- اندازه‌گیری قابلیت هضم به روش جمع‌آوری کل مدفوع

#### ۳-۵-۱- مرحله سازگاری

در این مرحله دام‌ها به مدت دو هفته با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. افزودن کود مرغی از سطوح کم در جیره‌ها آغاز شد و به تدریج بر میزان آن افزوده شد، طوری که در پایان این مرحله مصرف کود مرغی به سطوح

مورد نظر رسید. هدف از این مرحله عادت‌پذیر شدن میکروارگانسیم‌های شکمبه با کود مرغی فرآوری شده بود. در این مرحله نیز خوراک در دو وعده صبح و عصر در اختیار دام‌ها قرار داده شد.

### ۳-۵-۲- مرحله پیش آزمایش

بعد از مرحله سازگاری، به مدت یک هفته جیره‌های غذایی اصلی در اختیار دام‌ها قرار داده شد. هدف از این مرحله کسب اطمینان از خورده شدن مقدار خوراک تعیین شده و حصول اطمینان از وجود خوراک مورد آزمایش در دستگاه گوارش دام بود.

### ۳-۵-۳- مرحله اصلی آزمایش

قبل از انجام این مرحله دام‌ها وزن کشی و به مدت یک هفته خوراک‌های مورد آزمایش در دو نوبت صبح و عصر در اختیارشان قرار داده شد. در پایان این مرحله دام‌ها دوباره توزین شدند.

### ۳-۶- نمونه‌برداری

در شروع آزمایش، از هر جیره نمونه‌ای یک کیلوگرمی برای تجزیه شیمیایی گرفته شد. در طول هفته رکورد گیری و جمع‌آوری اطلاعات، هر روز صبح ساعت ۸ پیش از خوراک‌دهی، مدفوع روزانه هر دام جمع‌آوری شد و پس از توزین، ۱۰ درصد از آن در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردید. در نهایت، نمونه‌های مدفوع هر گوسفند به صورت جداگانه با هم مخلوط شد و یک نمونه نهایی برای تجزیه شیمیایی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد گردید. در این مدت نمونه‌های ادرار روزانه هر دام نیز در ظرف‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ (به منظور کاهش مقدار pH به کمتر از ۳، جهت جلوگیری از رشد باکتریایی) جمع‌آوری شد. در نهایت، نمونه‌های ادرار هر گوسفند به طور جداگانه با هم مخلوط شد و از هر کدام یک نمونه جهت اندازه‌گیری مقدار نیتروژن دفع شده و نمونه دیگر برای برآورد مقدار پروتئین میکروبی سنتز شده در شکمبه به دست آمد و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره گردید.

برای اندازه‌گیری پارامترهای شکمبه شامل pH، غلظت آمونیاک و اسیدهای چرب فرار (VFA) شکمبه، پس از عادت‌پذیری دام‌ها به جیره‌های آزمایشی، یک روز پیش از پایان آزمایش در زمان‌های صفر (قبل از تغذیه صبحگاهی)، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح‌گاهی، نمونه شیرابه شکمبه با استفاده از لوله مری از گوسفندان گرفته شد. مقدار pH هر نمونه توسط pH متر سیار اندازه‌گیری شد و نمونه‌های شیرابه شکمبه توسط چهار لایه کرباس صاف گردید. برای آماده‌سازی نمونه جهت اندازه‌گیری غلظت آمونیاک شکمبه، ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (۱۶/۵ میلی‌لیتر HCl با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) به نسبت ۵ به ۱ (۵ میلی‌لیتر شیرابه، ۱ میلی‌لیتر HCl ۰/۲ نرمال) رقیق گردید و تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد شد. برای اندازه‌گیری غلظت اسیدهای چرب فرار شکمبه، میزان ۱۰ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه با اسید اورتوفسفریک ۲۰ درصد به نسبت ۴ به ۱ (۴ میلی‌لیتر شیرابه شکمبه، ۱ میلی‌لیتر اسید اورتوفسفریک ۲۰ درصد) رقیق شد و تا روز آزمایش فریز گردید.

عملیات نمونه گیری خون از گوسفندان تحت آزمایش، در روز ششم از هفته جمع آوری مدفوع در ساعت های صفر، ۳ و ۶ ساعت از زمان خوراک دهی صبح از طریق سیاهرگ گردنی و داج انجام شد. عمل خون گیری با استفاده از لوله های ونوجکت حاوی EDTA صورت گرفت و به منظور جداسازی پلاسما، نمونه ها بلافاصله در به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) گردید و تا روز آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

### ۳-۷- تجزیه آزمایشگاهی نمونه ها

ابتدا نمونه های خوراک، پس مانده خوراک و مدفوع به وسیله غربال ۱ میلی متری آسیاب شد. سپس مطابق استاندارد (AOAC, 1990) مقادیر ماده خشک، خاکستر خام و پروتئین خام مورد تجزیه تقریبی قرار گرفت.

### ۳-۷-۱- اجزای دیواره سلولی

#### ۳-۷-۲- دیواره سلولی

میزان NDFom و لیگنین به ترتیب طبق روش های ون سوست و همکاران (۱۹۹۱) تعیین شد.

#### ۳-۷-۳- دیواره سلولی منهای همی سلولز

این بخش نیز توسط محلول شوینده اسیدی مطابق روش (AOAC, 1990) تعیین شد.

### ۳-۸- نحوه محاسبه قابلیت هضم

پس از پایان مراحل میدانی و گرفتن نمونه مدفوع و خوراک، قابلیت هضم جیره های آزمایشی طبق فرمول زیر بدست آمد (گیونز<sup>۵۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۰)

$$\text{قابلیت هضم ظاهری} = \frac{\text{مقدار ماده دفع شده} - \text{مقدار ماده خورده شده}}{\text{مقدار ماده خورده شده}} \times 100$$

برای محاسبه قابلیت هضم پروتئین خام کود مرغی به روش تفاوت (by difference) نیز از فرمول زیر استفاده - شد (مکدونالد<sup>۵۷</sup> و همکاران، ۲۰۰۲):

$$\text{قابلیت هضم پروتئین کود مرغی} = \frac{\text{مقدار CP در مدفوع غذای پایه} - \text{مقدار CP در مدفوع} - \text{مقدار CP در غذای آزمایشی}}{\text{مقدار CP در غذای آزمایشی}}$$

میزان ابقای نیتروژن از تفاضل نیتروژن خورده شده با مجموع نیتروژن دفع شده از طریق ادرار و مدفوع محاسبه گردید.

<sup>56</sup> Givens

<sup>57</sup> McDonald

### ۳-۹-۹- اندازه گیری متابولیت ها در نمونه های مایع شکمبه

#### ۳-۹-۱- اندازه گیری pH

پس از نمونه گیری از مایع شکمبه در زمان های مختلف، pH هر نمونه بلافاصله توسط pH متر اندازه گیری و ثبت شد.

#### ۳-۹-۲- اندازه گیری اسیدهای چرب فرار

اندازه گیری اسیدهای چرب فرار زنجیر کوتاه (اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک و والریک اسید) طی دو مرحله و با استفاده از استاندارد داخلی<sup>۵۸</sup> انجام گرفت. شرح جزئی روش در بخش ضمیمه آورده شده است.

#### ۳-۹-۳- اندازه گیری آمونیاک مایع شکمبه

میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت<sup>۵۹</sup> تعیین گردید (برودریک و کنگ<sup>۶۰</sup>، ۱۹۸۰). شرح بیشتر روش کار در بخش ضمیمه آورده شده است.

#### ۳-۱۰-۱- تعیین مشتقات پورینی<sup>۶۱</sup> در ادرار

##### ۳-۱۰-۱- جمع آوری ادرار

در دوره اصلی آزمایش (جمع آوری اطلاعات)، ادرار هر گوسفند به مدت ۷ روز، به طور جداگانه در سطل های مخصوص حاوی ۱۰۰ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ (به منظور حفظ pH در سطح زیر عدد ۳)، که برای این منظور در زیر قفس تعبیه شده بود، جمع آوری گردید. برای هر روز، ادرار جمع شده وزن و ثبت گردید و ۱۰ درصد از حجم ادرار به آزمایشگاه منقل و pH آن ها اندازه گیری شد. سپس به منظور جلوگیری از رسوب اسید اوریک در نمونه ها، هر نمونه ادرار به مقدار ۴ برابر با آب مقطر رقیق شد و ادرار رقیق شده در دمای ۴ درجه سلسیوس یخچال قرار داده شد. بعد از پایان روز های جمع آوری، نمونه های ادرار هر گوسفند به طور جداگانه با هم مخلوط شد و حدود ۲۰۰ میلی لیتر آن برداشته و در دمای ۲۰- درجه برای اندازه گیری های بعدی ذخیره گردید (توضیح این که مقدار ادرار مورد نیاز جهت انجام این آزمایش ۱۲ میلی لیتر می باشد). شرح روش آزمایشگاهی اندازه گیری مشتقات پورینی در بخش ضمیمه آورده شده است.

#### ۳-۱۰-۲- محاسبه پروتئین میکروبی

برآورد پروتئین میکروبی تولید شده بر اساس کل مشتقات پورینی دفعی ادرار و به روش چن و گومز<sup>۶۲</sup> (۱۹۹۵) انجام شد.

۱- محاسبه کل مشتقات پورینی (TPD) دفع شده در ادرار به صورت میلی مول در روز: از جمع مقادیر آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین به دست آمد.

<sup>58</sup> Internal Standard

<sup>59</sup> Phenol Hypochlorite Assay

<sup>60</sup> Broderick & Kang

<sup>61</sup> Purine derivatives (PD)

<sup>62</sup> Chen & Gomez

۲- محاسبه TPD جذب شده و TPD دفع شده: با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$Y = 0.84X + (0.150W^{0.75}e^{-0.25x})$$

TPD = Y دفع شده از طریق ادرار (بر حسب میلی مول در روز)

TPD = X جذب شده توسط دام (بر حسب میلی مول در روز)

$W^{0.75}$  = وزن متابولیکی حیوان،

e = عدد نبری

سپس برای محاسبه X مشتق رابطه بالا را گرفته و در رابطه زیر جایگزین و آنگاه مقدار X برآورد گردید.

$$X(n+1) = Xn - \frac{f(Xn)}{f'(Xn)}$$

$$f(x) = 0.84X + (0.150W^{0.75}e^{-0.25x}) - Y$$

$$f'(x) = (0.84 - 0.038W^{0.75}e^{-0.25x})$$

۳- محاسبه جذب پورین روزانه: با توجه به معادله بالا و جایگزین کردن مقدار Y (TPD دفع شده از طریق ادرار) مقدار

X برآورد گردید.

۴- محاسبه جریان روده‌ای نیتروژن میکروبی:

$$\text{Microbial N (gN/d)} = \frac{X \text{ (mmol/d)} \times 70}{0.116 \times 0.83 \times 1000} = 0.727X$$

0.83 = ضریب قابلیت هضم پورین‌های میکروبی، 70 = مقدار نیتروژن میکروبی (بر حسب میلی گرم نیتروژن در میلی مول)

0.116 = نسبت نیتروژن پورینی به کل نیتروژن در مخلوط میکروبی شکمبه (100 ÷ 11.6)

### ۳-۱۱- اندازه‌گیری متابولیت‌های خون

#### ۳-۱۱-۱- خون‌گیری

در روز ششم از دوره هفت روزه جمع‌آوری اطلاعات، از دام‌ها طی ۳ مرحله زمانی: قبل از تغذیه صبح‌گاهی، ۳ و ۶ ساعت پس از آن از سیاهرگ گردنی (وداج) نمونه خون گرفته شد. عمل خون‌گیری با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی EDTA صورت گرفت و بلافاصله نمونه‌ها به منظور جداسازی پلاسما در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و تا روز آزمایش در دردمای ۲۰- درجه سلسیوس فریزر نگهداری شد. برای اندازه‌گیری متابولیت‌های خون، از کیت شیمیایی شرکت پارس آزمون استفاده شد.

#### ۳-۱۱-۲- پروتئین تام<sup>۶۳</sup>

برای تعیین میزان کل پروتئین پلاسما طبق روش بیورت استفاده شد. پروتئین در محیط قلیایی با یون‌های مس تشکیل رنگ لاجوردی می‌دهد و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار پروتئین نمونه است. برای اندازه‌گیری کل پروتئین پلاسما تغییرات جذب با طول موج ۵۴۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) اندازه‌گیری شد.

<sup>63</sup> Total Protein (TP)

### ۳-۱۱-۳-آلبومین

محتوای آلبومین نمونه‌های پلاسما به روش فتومتریک محاسبه گردید. آلبومین موجود در پلاسما با بروموکرزول گرین<sup>۶۴</sup> (در pH اسیدی) ایجاد یک کمپلکس رنگی سبز-آبی می‌کند که شدت رنگ ایجاد شده متناسب با مقدار آلبومین نمونه است. تغییرات جذب در طول موج ۵۴۶ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) قرائت شد.

### ۳-۱۱-۴-کراتینین<sup>۶۵</sup>

مقدار کراتینین موجود (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) بر اساس روش آنزیمی و بدون حذف پروتئین‌ها صورت گرفت. در این روش، کراتینین با آلکالن پیکرات تشکیل یک کمپلکس رنگی می‌دهد و شدت رنگ ایجاد شده متناسب با غلظت کراتینین در نمونه است. طول موج مورد نیاز برای تغییرات جذب، ۵۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر می‌باشد.

### ۳-۱۱-۵-نیترژن اوره‌ای خون (BUN)

آنزیم اوره‌آز با هیدرولیز اوره باعث آزاد شدن دی‌اکسید کربن و آمونیاک می‌شود. آمونیاک حاصله در محیط به یون آمونیوم ( $\text{NH}_4^+$ ) تبدیل می‌شود. در واکنش بعدی، یون آمونیوم با آلفا کتوگلوکوتارات در حضور NADH تحت اثر آنزیم گلوکوتامات دهیدروژناز وارد عمل شده، گلوکوتامات و  $\text{NAD}^+$  را بوجود می‌آورد. مقدار اوره در طول موج ۳۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) خوانده شد. سپس، مقدار BUN از فرمول  $[BUN (mg / dl) = Urea(mg / dl) \times 0.467]$  محاسبه شد.

### ۳-۱۱-۶-گلوکز

در روش محاسبه غلظت گلوکز، آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز با فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین، در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در طول موج ۵۴۶ نانومتر با مقدار گلوکز رابطه مستقیم دارد.

### ۳-۱۱-۷-کلسترول

محتوای کلسترول نمونه‌ها نیز (بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در طول موج ۵۴۶ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش، پراکسید هیدروژن تولید شده در نتیجه هیدرولیز و اکسیداسیون کلسترول، به همراه فنول و ۴-آمینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده با مقدار کلسترول رابطه مستقیم دارد.

<sup>64</sup> Bromocresol Green

<sup>65</sup> Creatinine

### ۳-۱۲- طرح آزمایشی و تجزیه آماری داده ها

این تحقیق در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تیمار (سه جیره حاوی سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ درصد ملاس) و ۵ تکرار (گوسفند) با الگوی آماری زیر انجام شد.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij} \quad \text{که در آن:}$$

$Y_{ij}$  مقدار عددی هر مشاهده،

$\mu$  میانگین هر صفت،

$T_i$  اثر تیمار (منبع انرژی در جیره)

$e_{ij}$  خطای آزمایشی بود.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار سس<sup>۶۶</sup> (۲۰۰۰) و الگوی خطی عمومی (GLM) صورت گرفت. معنی داری اثرات خطی (Linear) و غیر خطی (Quadratic) نیز با استفاده از مقایسات اورتوگونال (متعامد) و طبق فرمول‌های زیر انجام شد:

contrast ' linear ' T -3-1+1+3;

contrast ' quadratic ' T +1-1-1+1;

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

---

<sup>66</sup> SAS



## فصل چهارم

### نتایج و بحث

#### ۴-۱- قابلیت هضم

نتایج مربوط به قابلیت هضم مواد مغذی و انرژی قابل متابولیسم جیره‌های آزمایشی در جدول ۴-۱ نشان داده شده است. افزودن ملاس به جیره سبب بالا رفتن قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام (به طور خطی) گردید ( $p < 0.05$ )، ولی ضریب هضمی ماده آلی، ماده آلی در ماده خشک (DOMD)، فیبر نامحلول در شوینده خنثی منهای خاکستر (NDFom) و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی منهای خاکستر (ADFom) و نیز میزان انرژی قابل متابولیسم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴-۱- اثر ملاس بر قابلیت هضم مواد مغذی (درصد) و انرژی قابل متابولیسم (مگاژول در کیلو گرم ماده خشک)

Contrast	P-value	SEM	درصد ملاس در جیره			قابلیت هضم	
			۱۰	۵	صفر		
Q	L						
۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۶۶	۶۹ <sup>a</sup>	۶۸/۳ <sup>a</sup>	۶۵/۴ <sup>b</sup>	ماده خشک
۰/۸۰	۰/۳۳	۰/۲۰	۰/۷۴	۷۲/۰	۷۱/۲	۷۰/۹	ماده آلی
۰/۹۳	۰/۷۱	۰/۴۴	۰/۱۲	۶۴/۱	۶۳/۷	۶۳/۵	ماده آلی در ماده خشک
۰/۹۰	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۷۳	۶۹/۳ <sup>a</sup>	۶۷/۵ <sup>a</sup>	۶۵/۸ <sup>b</sup>	پروتئین خام
۰/۴۷	۰/۰۹	۰/۲۱	۰/۴۹	۶۳/۷	۶۳	۶۲/۴	NDFom
۰/۵۷	۰/۱۰	۰/۲۲	۰/۸۵	۶۲/۲	۶۱/۸	۶۰	ADFom
۰/۹۴	۰/۷۰	۰/۹۲	۰/۱۸	۱۰/۱	۹/۹۹	۹/۹۶	انرژی قابل متابولیسم

NDFom: فیبر نامحلول در شوینده خنثی منهای خاکستر، ADFom: فیبر نامحلول در شوینده اسیدی منهای خاکستر

برای تخمین انرژی قابل متابولیسم (ME) از فرمول  $ME (MJ/kg DM) = DOMD \times 0.0157$  استفاده شد (AFRC, 1992) که در آن:

$ME =$  انرژی قابل متابولیسم بر حسب مگاژول در کیلو گرم ماده خشک و  $DOMD =$  ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (بر حسب

گرم در کیلوگرم) می باشد.  $L$ : اثر خطی ملاس در جیره،  $Q$ : اثر غیر خطی ملاس در جیره،

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

بهبود قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جیره، در اثر افزودن ملاس احتمالاً به دلیل وجود قندهای محلول در آب موجود در ملاس بود است که در مقایسه با نشاسته با سرعت بیشتری در شکمبه تخمیر می شود و در نتیجه بر سرعت فعالیت و تکثیر باکتری های شکمبه و بازده استفاده از نیتروژن کود مرغی در سنتز پروتئین میکروبی و گوارش پذیری ماده خشک موثر واقع شده است (چمبرلین<sup>۶۷</sup> و همکاران، ۱۹۹۳). علاوه بر این محتوای پایین تر

<sup>67</sup> Chamberlain

مواد فیبری (ADFom، NDFom و لیگنین) در جیره‌های حاوی ملاس (جدول ۲-۲) از دیگر دلایل احتمالی بهبود قابلیت هضم در این جیره‌ها بوده است.

نتایج پژوهش حاضر با یافته‌های گزارش شده توسط عزیزی شتر خفت و همکاران (۲۰۱۲)، در خصوص اثر افزودن ملاس بر قابلیت هضم ماده خشک، پروتئین خام و NDFom در مقایسه با جیره حاوی ذرت یا جو همخوانی دارد. همچنین، جایگزین کردن ملاس به جای ذرت، قابلیت هضم ماده خشک جیره را در گوساله‌ها افزایش داده است (هچ و بیسون<sup>۶۸</sup>، ۱۹۷۲). این در حالی است که تغذیه ساکارز به جای ذرت در گاو شیرده قابلیت هضم مواد مغذی جیره‌های آزمایشی را تحت تأثیر قرار نداده است (پنیر و اوبا<sup>۶۹</sup>، ۲۰۰۹). در بسیاری موارد افزودن ملاس به جیره، در مقایسه با غلات، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جیره را کاهش داده است که احتمالاً می‌تواند به عدم تأمین پروتئین کافی برای رفع نیاز نیتروژنی باکتری‌های شکمبه یا حیوان میزبان مربوط باشد (پتی<sup>۷۰</sup>، ۱۹۸۳).

میزان انرژی قابل متابولیسم برآورد شده در جیره‌های مختلف تفاوت آماری معنی داری را نشان نداد اما بالاتر از میزان محاسبه شده (۹/۹۶ تا ۱۰/۱۰ در مقابل ۸/۸۸ تا ۸/۹۹ مگاژول در کیلو گرم ماده خشک) در جیره‌های غذایی تنظیم شده (جدول ۳-۲) بود. ارقام انرژی ذکر شده در جدول ۳-۲ بر اساس محاسبه میزان انرژی تک تک مواد خوراکی (با استفاده از جداول NRC، ۲۰۰۷) مورد استفاده و نسبت آن‌ها در جیره محاسبه شد اما انرژی قابل متابولیسم ذکر شده در جدول ۴-۱ با استفاده از اطلاعات به دست آمده از آزمایش  $ME (MJ/kg DM) = DOMD \times 0.0157$  برای کل جیره به دست آمد. به نظر می‌رسد اثرات مثبت هم پوشانی مواد خوراکی در جیره سبب بهبود گوارش پذیری و بالا رفتن قابلیت انرژی زایی مجموع مواد خوراکی جیره غذایی شده باشد (روینسون<sup>۷۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۹).

#### ۴-۲- مشتقات پورینی و تولید پروتئین میکروبی

همان طوری که در جدول ۴-۲ نشان داده شده است مکمل کردن جیره حاوی کود مرغی با ملاس به طور مشخص مقادیر آلانتوئین، گزانتین به علاوه هیپوگزانتین، کل مشتقات پورینی دفع شده، کل مشتقات پورینی جذب شده و پروتئین میکروبی را به طور خطی افزایش داده است ( $p < 0.05$ ) اما مقدار دفع اسید اوریک تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفته است.

مقادیر به دست آمده برای آلانتوئین، اسید اوریک و گزانتین به علاوه هیپوگزانتین در این آزمایش در دامنه‌های طبیعی قرار داشت. دامنه طبیعی متغیرهای مزبور به ترتیب ۸۰-۶۰، ۳۰-۱۰ و ۱۰-۵ درصد از کل مشتقات پورینی اعلام شده است (چن و گومز، ۱۹۹۵). علت بهبود سنتز پروتئین میکروبی با تغذیه جیره‌های حاوی ملاس احتمالاً به خاطر میزان بالای کربوهیدرات‌های سریع تخمیر شونده (مانند ساکارز) در ملاس بوده است

<sup>68</sup> Hatch & Beeson

<sup>69</sup> Penner & Oba

<sup>70</sup> Pate

<sup>71</sup> Robinson

که با آزادسازی میزان زیاد نیتروژن محلول محتوی کود مرغی در شکمبه همزمان شده است. نتایج مشابهی توسط چمبرلین و توماس<sup>۷۲</sup> (۱۹۸۳) بر روی گوسفند و چمبرلین و چاونگ<sup>۷۳</sup> (۱۹۹۵) در گوساله گزارش شده است. هم چنین یافته های پژوهش حاضر با اطلاعات منتشر شده بر اساس الگوی CNCPS (NRC, 1996) هم خوانی دارد. بر اساس الگوی مزبور، میکروارگانیزم های تخمیرکننده قندهای محلول حدود ۱۸ درصد پروتئین میکروبی بیشتری در مقایسه با میکروارگانیزم های تخمیرکننده نشاسته در دانه ذرت تولید می کنند. طی آزمایش فضائی و همکاران (۱۳۹۱) که بر روی گوسفند انجام گرفت نیز مصرف توام ملاس و کود مرغی فراوری شده در جیره غذایی، مقدار کل مشتقات پورینی دفع شده و تولید پروتئین میکروبی، نسبت به مصرف توام دانه غلات و کود مرغی فراوری شده، به طور معنی داری افزایش نشان داد.

جدول ۴-۲: اثر جیره های آزمایشی بر مشتقات پورینی دفع شده (میلی مول در روز) و پروتئین میکروبی تولید شده (گرم در روز)

Contrast	P-value	SEM	درصد ملاس در جیره			مشتقات پورینی
			۱۰	۵	صفر	
Q	L					
۰/۷۳	۰/۰۱	۰/۰۴	۰/۳۲	۱۱/۹ <sup>a</sup>	۱۱/۴ <sup>ab</sup>	۱۰/۷ <sup>b</sup>
۰/۶۶	۰/۸۳	۰/۸۸	۰/۲۶	۲/۳۴	۲/۲۴	۲/۴۲
۰/۲۳	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۹۱ <sup>a</sup>	۰/۷۷ <sup>ab</sup>	۰/۷۷ <sup>b</sup>
۰/۹۱	۰/۰۲	۰/۰۷	۰/۳۷	۱۵/۲	۱۴/۴	۱۳/۹
۰/۹۰	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۳۲	۱۷/۲ <sup>b</sup>	۱۶/۴ <sup>ab</sup>	۱۵/۶ <sup>b</sup>
۰/۷۵	۰/۰۱	۰/۰۴	۱/۷	۷۸/۳ <sup>a</sup>	۷۴/۴ <sup>ab</sup>	۷۱/۸ <sup>b</sup>

TPD: کل مشتقات پورینی، L: اثر خطی افزودن ملاس به جیره، Q: اثر غیر خطی افزودن ملاس به جیره،

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

مغایر با نتایج حاضر، در آزمایشی که سطوح مختلف ساکارز به جای ذرت در جیره گاو شیری مورد بررسی قرار گرفت، کل مشتقات پورینی دفع شده در ادرار تحت تأثیر قرار نگرفت اما میزان تولید پروتئین میکروبی در شکمبه کاهش یافت (سانیز<sup>۷۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین، در مطالعه دیگری (برودیریک<sup>۷۵</sup> و همکاران، ۲۰۰۸) جایگزین کردن ساکارز به جای نشاسته در جیره گاو شیری اثری بر سنتز پروتئین میکروبی نداشت.

#### ۴-۳- پارامترهای شکمبه

در جدول ۴-۳ نتایج مربوط به میانگین پارامترهای شکمبه شامل pH، آمونیاک و اسیدهای چرب فرار در زمان های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک دهی وعده صبح را نشان داده شده است. افزودن ملاس به جیره مقدار pH و غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه را به طور خطی کاهش داد ولی مقدار بوتیرات شکمبه به طور خطی

<sup>72</sup> Chamberlain&Thomas

<sup>73</sup> Chamberlain&Chaung

<sup>74</sup> Sannes

<sup>75</sup> Broderick

افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). سایر پارامترهای اندازه گیری شده در محتویات شکمبه شامل: غلظت کل اسیدهای چرب فرار (total VFAs)، استات، پروپیونات، ایزووالرات، والرات و نسبت استات به پروپیونات تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت.

جدول ۴-۳: اثر جیره‌های آزمایشی بر پارامترهای شکمبه

Contrast	P-value	SEM	درصد ملاس در جیره			متغیرها	
			۱۰	۵	صفر		
Q	L						
۰/۸۴	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۰۴	۶/۱۵ <sup>b</sup>	۶/۲۲ <sup>ab</sup>	۶/۳۰ <sup>a</sup>	pH
۰/۱۵	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۷۸	۱۹/۹ <sup>b</sup>	۲۳/۰ <sup>a</sup>	۲۳/۲ <sup>a</sup>	آمونیاک (mg/dl)
							اسیدهای چرب فرار (mmol/l):
۰/۸۹	۰/۴۰	۰/۶۸	۲/۴	۹۳/۳	۹۱/۳	۹۰/۱	کل اسیدهای چرب فرار
۰/۷۷	۰/۴۸	۰/۷۴	۲/۱	۵۹/۸	۵۸/۱	۵۷/۷	استات
۰/۷۰	۰/۴۳	۰/۶۷	۱/۱	۱۶/۹	۱۸/۱	۱۸/۲	پروپیونات
۰/۲۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۵۸	۱۲/۲ <sup>a</sup>	۱۰/۱ <sup>b</sup>	۹/۹۱ <sup>b</sup>	بوتیرات
۰/۸۱	۰/۸۳	۰/۹۵	۰/۱۶	۱/۱۵	۱/۲۲	۱/۲۰	ایزووالرات
۰/۳۲	۰/۷۰	۰/۵۶	۰/۱۷	۱/۵۳	۱/۲۶	۱/۴۳	والرات
۰/۸۳	۰/۴۹	۰/۷۶	۰/۲۲	۳/۵۳	۳/۴۸	۳/۳۱	نسبت استات به پروپیونات

نمونه‌گیری از شیرابه شکمبه در زمان‌های صفر، ۳ و ۶ ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح می‌باشد،  
 L: اثر خطی افزودن ملاس به جیره، Q: اثر غیر خطی افزودن ملاس به جیره،  
 حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

میانگین مقدار pH بین جیره‌های آزمایشی در دامنه طبیعی ۶/۱-۶/۸ اعلام شده توسط ونسوست (۱۹۹۴) بود. کاهش pH شیرابه شکمبه با تغذیه جیره‌های حاوی ملاس احتمالاً به دلیل وجود قندهای محلول در ملاس بوده است که در مقایسه با نشاسته با سرعت بیشتری در شکمبه تخمیر می‌شوند (ساهو<sup>۷۶</sup> و همکاران، ۱۹۹۹). مدل CNCPS نشان داده است که قندها با سرعتی حدود ۳۰۰ درصد در ساعت در شکمبه تخمیر می‌شوند (سنیفین<sup>۷۷</sup> و همکاران، ۱۹۹۲) در حالی که سرعت تخمیر نشاسته حدود ۶ تا ۶۰ درصد در ساعت است (کرویر<sup>۷۸</sup>، ۲۰۰۷). به‌علاوه، گزارش شده است که استفاده از ملاس در جیره، ترشح بزاق توسط دام را کاهش می‌دهد که ممکن است از دیگر دلایل کاهش pH شکمبه باشد (بیناویدز و رودریگوز<sup>۷۹</sup>، ۱۹۷۱). مطابق با نتایج این تحقیق، در آزمایش انجام شده توسط فضائلی و همکاران (۱۳۹۱) نیز مکمل کردن جیره حاوی کود مرغی با ملاس در

<sup>76</sup> Sahoo

<sup>77</sup> Sniffen

<sup>78</sup> Carrer

<sup>79</sup> Benavides & Rodriguez

گوسفند، مقدار pH شکمبه را به طور معنی‌داری در مقایسه با جیره حاوی ذرت یا جو کاهش داد. افزودن ملاس به جای سبوس برنج نیز مقدار pH شکمبه را کاهش داده است (ساهو و همکاران، ۱۹۹۹). بر خلاف این نتایج، ارابا<sup>۸۰</sup> و همکاران (۲۰۰۲) با جایگزینی ملاس به جای جو تا سطح ۶۰ درصد از سهم جو در جیره گاوها، یک افزایش خطی را در مقدار pH شکمبه مشاهده کردند. این محققین افزایش مقدار pH شکمبه را به وجود مقادیر زیاد کاتیون‌هایی مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم در ملاس ربط دادند که احتمالاً ظرفیت بافری شکمبه را در مقابل کاهش pH شکمبه افزایش داده است.

میانگین غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه با تغذیه جیره‌های آزمایشی در دامنه مطلوب ۳۰-۸/۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر شیرابه شکمبه گزارش شده توسط مکدونالد و همکاران (۲۰۰۲) قرار داشت. همچنین، مقادیر بدست آمده بالاتر از حداقل مقدار مورد نیاز (۵ میلی‌گرم در هر دسی‌لیتر شیرابه شکمبه) جهت رشد مطلوب میکروارگانسیم‌های شکمبه بود (ساتیرواسلایتر<sup>۸۱</sup>، ۱۹۷۴). غلظت کمتر آمونیاک شیرابه شکمبه در گوسفندان تغذیه شده با جیره‌های حاوی ملاس احتمالاً به خاطر سنتز پروتئین میکروبی بیشتر (جدول ۳-۲) در این جیره‌ها بوده است. نتایج مشابهی نیز توسط اوبارا و دیلو<sup>۸۲</sup>، (۱۹۹۳)؛ ارابا و همکاران (۲۰۰۲) به ترتیب در گوسفند و گاو گزارش شده است. به‌علاوه، چمبرلین و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که مکمل کردن جیره بر پایه علوفه با ساکارز غلظت آمونیاک شکمبه را در مقایسه با نشاسته به طور معنی‌داری کاهش داده است. بر خلاف آنچه گفته شد در آزمایش انجام شده توسط ساهو و همکاران (۱۹۹۹)، با افزایش میزان ملاس در جیره غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه روندی افزایشی نشان داد. تفسیر این محققین این بود که کاهش مقدار pH شکمبه با تغذیه جیره‌های حاوی ملاس احتمالاً جذب آمونیاک از دیواره شکمبه را کاهش داده و آمونیاک در شکمبه تجمع پیدا کرده است.

در این تحقیق مصرف ملاس در جیره اثری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار (TVFAs)، استات و پروپیونات نداشت که احتمالاً به خاطر استفاده از سطوح کم ملاس در جیره بوده است. نتایج دیگر محققین نشان داده است که روند تغییرات اسیدهای چرب فرار در شکمبه به مقدار ملاس استفاده شده در جیره بستگی دارد. با جایگزینی سطوح صفر، ۲۰، ۴۰ یا ۶۰ درصد ملاس به جای جو در جیره گاوهای فیستوله شده، یک روند کاهشی برای TVFAs، استات و پروپیونات مشاهده شده است (ارابا و همکاران، ۲۰۰۲). این در حالی است که با افزودن سطوح صفر، ۱۰ یا ۲۰ درصد ملاس به جای سبوس برنج در جیره گوساله‌ها غلظت TVFAs روند افزایشی نشان داده است (ساهو و همکاران، ۱۹۹۹). در گزارش دیگری جایگزین کردن ۱۵ درصد ملاس به جای ذرت تأثیری بر غلظت اسیدهای چرب فرار در شکمبه نداشته است (هچ و بیسون، ۱۹۷۲).

<sup>80</sup> Araba

<sup>81</sup> Satter & Slyter

<sup>82</sup> Obara & Dellow

افزایش غلظت بوتیرات با افزایش مقدار ملاس در جیره مشابه سایر مطالعات انجام شده بود (فریگینز<sup>۸۳</sup> و همکاران، ۱۹۹۸؛ ارابا و همکاران، ۲۰۰۲؛ عزیززی شترخفت و همکاران، ۲۰۱۲). اطلاعات منتشر شده توسط پتی (۱۹۸۳) نیز حاکی از آن است که جاگزینی بخشی از غلات جیره با ملاس معمولاً تولید بوتیرات را در مقایسه با پروپیونات افزایش می‌دهد. بوتیرات مؤثرترین اسید چرب فرار به منظور رشد و توسعه پرزهای شکمبه محسوب می‌شود (راسل<sup>۸۴</sup>، ۲۰۰۲).

### ۳-۴- متابولیت‌های خون

میانگین غلظت متابولیت‌های خون در جدول ۴-۴ نشان داده شده است. به جز غلظت نیتروژن اوره‌ای خون که با افزایش سطح ملاس در جیره به طور خطی کاهش یافت ( $p < 0.05$ )، سایر متابولیت‌های خون تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت. کاهش غلظت نیتروژن اوره‌ای خون با تغذیه جیره‌های حاوی ملاس احتمالاً به دلیل روند مشابه ایجاد شده در غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه بوده است. پژوهشگران (دیبیتر و فرگوسن<sup>۸۵</sup>، ۱۹۹۲) همبستگی مثبتی را بین غلظت آمونیاک شیرابه شکمبه و غلظت نیتروژن اوره‌ای خون گزارش کردند.

جدول ۴-۴: اثر جیره‌های آزمایشی روی متابولیت‌های خون

Contrast	P-value	SEM	درصد ملاس در جیره			متغیرها	
			۱۰	۵	صفر		
Q	L						
۰/۶۴	۰/۶۹	۰/۸۲	۰/۵۰	۸/۳۳	۸/۴۹	۸/۰۵	پروتئین تام <sup>۱</sup> (گرم در دسی لیتر)
۰/۵۴	۰/۷۲	۰/۷۶	۰/۱۰	۴/۲۱	۴/۳۲	۴/۲۷	آلبومین (گرم در دسی لیتر)
۰/۱۷	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۱۲	۳/۶۰ <sup>b</sup>	۴/۱۰ <sup>a</sup>	۴/۱۲ <sup>a</sup>	نیتروژن اوره‌ای خون <sup>۲</sup> (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۳۹	۰/۷۷	۰/۶۵	۰/۱۰	۰/۹۹	۰/۸۹	۱/۰۳	کراتینین (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۹۹	۰/۴۷	۰/۷۵	۲/۱۰	۷۱/۴	۷۲/۵	۷۳/۸	گلوکز (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۸۸	۰/۹۵	۰/۹۸	۷/۵	۸۳/۸	۸۴/۸	۸۳/۱	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)

۱- Total protein، ۲- Blood Urea Nitrogen (BUN)

L: اثر خطی افزودن ملاس به جیره، Q: اثر غیر خطی افزودن ملاس به جیره،

حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

نتایج به دست آمده توسط سانیز و همکاران (۲۰۰۲) در گاو شیری نتایج این تحقیق را تأیید می‌کند. سطح ملاس در جیره اثری بر غلظت گلوکز خون نداشت و در جیره‌های آزمایشی روند مشابهی با غلظت پروپیونات مشاهده

<sup>83</sup> Friggens

<sup>84</sup> Russell

<sup>85</sup> DePeters & Ferguson

گردید. پروبیونات مهم ترین پیش ساز گلوکز در نشخوارکنندگان است که در چرخه گلوکونئوز کبدی حدود ۷۵ درصد گلوکز خون را تولید می کند (بروگمن<sup>۸۶</sup>، ۱۹۹۳).

### نتیجه گیری

به طور کلی هدف از انجام پژوهش حاضر بررسی اثر جایگزینی بخشی از دانه غلات (جو و ذرت) با ملاس در جیره غذایی حاوی ۲۴ درصد کود مرغی عمل آوری شده بر بازدهی جیره غذایی بود که بر اساس روش های تعیین گوارش پذیری مواد مغذی، عملکرد فرایند تخمیر و سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه بر روی گوسفند مورد ارزیابی قرار گرفت. فرض بر این بود که با جایگزینی بخشی از دانه غلات (به عنوان منبع نشاسته ای) با ملاس چغندر قند (حاوی مواد قندی با سرعت تخمیر شکمبه ای نسبتاً بالا)، قابلیت استفاده از مواد مغذی و بازده بیوسنتز شکمبه ای جیره حاوی کود مرغی بهبود یابد. کل نسبت غلات در جیره پایه ۲۴ درصد در نظر گرفته شد که در جیره های آزمایشی ۲ و ۳ به ترتیب ۵ و ۱۰ درصد از کل جیره (به ترتیب معادل حدود ۲۱ و ۴۲ درصد از سهم غلات بر مبنای ۱۰۰٪ غلات) با استفاده از ملاس چغندر جایگزین شد.

نتایج نشان داد که مصرف ملاس، قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین خام جیره غذایی را به طور خطی افزایش داد ولی بر قابلیت هضم بخش های فیبری (فیبر نامحلول در شوینده خنثی و فیبر نامحلول در شوینده اسیدی) اثری نداشت. میزان انرژی قابل متابولیسم برآورد شده نیز تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. مقدار پروتئین میکروبی سنتز شده و مقدار بوتیرات تولیدی در شکمبه، با مصرف ملاس در جیره به طور خطی افزایش یافت اما غلظت استات، پروبیونات، ایزووالرات، والرات، نسبت استات به پروبیونات و کل اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر جیره های آزمایشی قرار نگرفت. غلظت نیترژن اوره ای خون با افزایش سطح ملاس در جیره به طور خطی کاهش یافت اما سایر متابولیت های خون (پروتئین تام، آلبومین، کراتینین، گلوکز و کلاسترول) تحت تأثیر قرار نگرفت.

در مجموع، استفاده از ملاس چغندر تا سطح ۱۰ درصد ماده خشک جیره غذایی، به جای بخش غله جیره، اثر مطلوبی بر قابلیت هضم و سنتز پروتئین میکروبی در گوسفند داشت.

### پیشنهادات

بر اساس یافته های پژوهش حاضر پیشنهاد می شود، اثر مصرف ملاس توام با کود مرغی در جیره غذایی، بر عملکرد کمی و کیفی دام های پرواری مورد بررسی و آزمایش قرار بگیرد.

## منابع

- آمار نامه کشاورزی سال (۱۳۸۹). دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی، جلد دوم محصولات وزارت جهاد کشاورزی، معاونت برنامه ریزی و اقتصادی.
- روح بخش، ع. و ف. حق شناس. (۱۳۶۹). کنترل بهداشتی مواد خوراکی (نمونه برداری، آزمایش، تفسیر). انتشارات چهر. ۲۷۴ ص.
- شریفی، ک. (۱۳۷۰). کاربرد کود مرغی بستر (جوجه های گوشتی) در تغذیه گوسفند و بررسی اثرات آن بر تعدادی از پارامترهای خونی. پایان نامه دکترا، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
- شریفی، ک. (۱۳۷۰). کاربرد کود مرغی بستر (جوجه های گوشتی) در تغذیه گوسفند و بررسی اثرات آن بر تعدادی از پارامترهای خونی. پایان نامه دکترا، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
- صالح طریق، ع. (۱۳۸۸). اثر تیمار حرارتی بر بار میکروبی و ارزش تغذیه ای کود بستر جوجه های گوشتی با و بدون افزودن ملاس، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد (واحد ورامین). دانشکده کشاورزی، ص ۱۰۰.
- فضائی، ح. (۱۳۸۸). استفاده بهینه از پس ماند های کشاورزی در تغذیه دام. چهارمین همایش ملی بررسی ضایعات محصولات کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس. ص. ۱۹۸-۲۰۴.
- فضائی، ح.، ق. مقصودی نژاد، س.ا. میرهادی، ن. واسجی، م. عاملی، د. ابراهیمی و ن. تیمور نژاد. (۱۳۸۹). دستیابی به فناوری تولید مکمل خوراک دام بر اساس ملاس و فضولات طیور. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- فضائی، ح.، ح. غلامی، م. زاهدی فر، ف. امینی، ق. مقصودی نژاد، ا. اکبری و ن. تیمور نژاد. (۱۳۹۰). اثر سطوح مختلف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی بر قابلیت هضم و مصرف اختیاری خوراک در گوسفند. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- فضائی، ح.، ح. غلامی، م. زاهدی فر، ف. امینی، ق. مقصودی نژاد، ا. اکبری و ن. صر تیمور نژاد. (۱۳۹۱). اثر سطوح مختلف کود مرغی عمل آوری شده در جیره غذایی بر قابلیت هضم و مصرف اختیاری خوراک در گوسفند.
- Abebe, G., Merkel, R.C., Animut, G., Sahu, T. and Goetsch, A.L. (2004). Effects of ammoniation of wheat straw and supplementation with soybean meal or broiler litter on feed intake and digestion in yearling Spanish goat wethers. *Small Ruminant Research*, 51:37-46.
- AFRC. (1992). Technical committee on responses of nutrients, Report No 9. Nutritive requirements of ruminant animal: Protein. *Nutrition Abstract and Review.*, Series b, 62(12), 787-835, CAB International, Wallingford, Oxon.
- Al-Marsi, M.R. and Zarkawi, M. (1999). Digestibility and composition of broiler litter, as effect by gamma irradiation. *Bioresearch Technology*, 69:129-132.
- AOAC. (1990). Official method of analysis, 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Araba, A., Byers, F.M. and Guessous, F. (2002). Patterns of rumen fermentation in bulls fed barley/molasses diets. *Animal Feed Science and Technology*, 97:53-64.
- Arieli, A., Petch, H., Zamwell, S. and Tagari, H. (1991). Nutritional adapttion of herfers to diets containing poultry litter. *Journal of Livesock Production Science*, 28:53-63.
- Azizi-Shotorkhoft, A., Rouzbehan, Y. and Fazaeli, H. (2012). The influence of the different carbohydrate sources on utilization efficiency of processed broiler litter in sheep. *Livestock Science*, 148(3):249-254.
- Benavides, M.C. and Rodriguez, J. (1971). Salivary secretion and its contribution to ruminal fluid flow in animals fed on liquid molasses/based diets. *Rev. Cuban Scienc of Agricultural Engineering*, 5:31-40.
- Bhattacharya, A.N. and Fontenot, J.P. (1965). Utilization of different levels of poultry litter nitrogen by sheep. *Journal of Animal Science*, 24:1174-1178.



- Boucher S.E., Ordway, R.S., Whitehouse, N.L., Lundy, F.P., Kononoff, P.J. and Schwab, C.G. (2007). Effect of incremental urea supplementation of a conventional cor silage-based diet on ruminal ammonia concentration and synthesis of microbial protein. *Journal of Dairy Science*, 90:5619-5633.
- Brockman, R.P. (1993). Glucose and short-chain fatty acid metabolism. Pages 249–265 in *Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism*. J. M. Forbes, ed. CABI Publ., Cambridge, MA.
- 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*, 54: 1176-1183.
- Broderick, G.A., Luchini, N.D., Reynal, S.M., Varga, G.A. and Ishler, V.A. (2008). Effect on production of replacing dietary starch with sucrose in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91:4801-4810.
- Bunting, L.D., Yavuz, M., Fernandez, J.M. and Solaiman, S.G. (2002). Growth and metabolic responses of Holstein calves fed broiler litter-based diets supplemented with L- carnitine. *Animal Feed Science and Technology*, 98:61-71.
- Capucille, D.J., Poore, M.H. and Rogers, G.M. (2004). Growing and finishing performance of steers when fed recycled poultry bedding during the growing period. *Journal of Animal Science*, 82:3038-3048.
- Carver, L.A. (2007). Sugar aids lactating dairy cattle production. *Feedstuffs*. Vol. 79, No. 02, January 8. In: <http://www.qlf.com/library/sugar-aids-lactating-dairy-cattle-production/view.html>.
- Caswell, L.F., Fontenot, J.P. and Webb, K.E. (1975). Effect of processing method on pasteurization and nitrogen components of broiler litter and on nitrogen utilisation by sheep. *Journal of Animal Science*, 40:750-759.
- Caswell, L.F., Webb K.E. and Fontenot, J.P. (1977). Fermentation nitrogen utilization, digestibility and palatability of broiler litter ensiled with high moisture corn grain. *Journal of Animal Science*, 44:803-813.
- Chamberlain, D.G. and Thomas, P.C. (1983). The effect of supplemental methionine and inorganic sulphate on the ruminal digestion of grass silage in sheep. *Journal of Food Science and Agriculture*, 34:440-446.
- Chamberlain, D.G., Robertson, S. and Choung, J.J. (1993). Sugars versus starch as supplements to grass silage: effects on ruminal fermentation and the supply of microbial protein to the small intestine, estimated from the urinary excretion of purine derivatives in sheep. *Journal of Science of Food Agriculture*, 63:189–194.
- Chamberlain, D.G. and Choung, J.J. (1995). The importance of rate of ruminal fermentation of energy sources in diets for dairy cows. Pages 3-27 in *Recent Advances in Animal Nutrition*. P.C. Garnsworthy and D.J.A. Col, eds. Nottingham University Press, Nottingham, UK.
- Chen, X.B. and Gomes, J.M. (1995). Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle based on urinary excretion of purine derivatives an Overview of the Technical Details. Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen AB2 9SB. UK.
- Church, D.C. (1979). *Digestive physiology and nutrition of ruminants*. Second edition, Vol 2. O&B Books. Inc. 36-37.
- Clark, J.H., Klusmeyer, T.H. and Cameroon, M.R. (1992). Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. Symposium: nitrogen metabolism and amino acid nutrition in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 75:2304-2323.
- Cross, D.L., Skelley, G.C. and Thompson, C.S. (1978). Efficacy of broiler litter silage for beef steers. *Journal of Animal Science*, 47:544-551.
- Cullison, A.E., Campell, H.C., Cunningham, A.C., Lowery, R.S., Warren, E.P., Mclendon, B.D. and Sherwood, D.H. (1976). Use of poultry manures in steer finishing rations. *Journal of Animal Science*, 42:219-228.
- Daniel, J. and Olson, K.C. (2005). Feeding poultry litter to beef cattle. Department of Animal Science, University of Missouri Extension Publication, G277. Available in: <http://extension.missouri.edu/xplor/agguides/ansci/g02077.html>.

- DePeters, E.J. and Ferguson, J.D. (1992). Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science*, 75:3192-3209.
- Elemam, M.B., Fadeleseed, A.M. and Salih, A.M. (2009). Growth performance, digestibility, N-balance and rumen fermentation of lambs fed different levels of deep-stack broiler litter. *Research Journal of Animal and Veterinary Science*, 4:9-16.
- Feng, P., Hoover, W.H., Miller, T.K. and Blauwie, R. (1993). Interaction of fiber and nonstructural carbohydrates on lactation and ruminal function. *Journal of Dairy Science*, 76:1324-1333.
- Ferguson, N.S., Gates, R.S., Taraba, J.L., Cantor, R.H., Pescatore, A.J., Straw, M.L., Ford, M.J. and Burnham, D.J. (1998). The effect of dietary protein and phosphorous on ammonia concentration and litter composition in broilers. *Poultry Science*, 77:1085-1093.
- Fontenot, J.P. (2000). Utilization of poultry litter as feed for beef cattle. *Animal Residuals Management*. 19:234-252.
- Friggens, N.C., Oldham, J.D., Dewhurst, R.J. and Horgan, G. (1998). Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage. *Journal of Dairy Science*, 81:1331-1344.
- Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E. and Omed, H.M. (2000). *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*, First Ed. CABI Publishing, Walingford, Oxon, Ox108 DE.
- Goetsch, A.L., Anthony, N.B., Woodley, M.A. and Tabler, G.T. (1998). Chemical constituents in broiler litter in two areas of a production unit after different numbers of growing periods. *Bioresearch Technology*, 65:151-157.
- Harmon, B.W.A., Fontenot, J.P. and Webb, K.E. (1974). Effect of processing method of broiler litter on nitrogen utilization by lambs. *Journal of Animal Science*, 39:942-946.
- Hatch, C.F. and Besson, W.M. (1972). Effect of different levels of cane molasses on nitrogen and energy utilization in urea rations for steers. *Journal of Animal Science*, 35:854-858.
- Hindrichsen, I.K., Osuji, P.O., Odenyo, A.A., Madsena, J. and Hvelplund, T. (2002). Effects of supplementation of basal diet of maize stover with different amounts of *Leucaena diversifolia* on intake, digestibility, nitrogen balance and rumen parameters in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 98:131-142.
- Jakhmola, R.C., Kundu, S.S., Panj, M.L., Kiran Singh, Kamara, D.N. and Singh, R.S. (1988). Animal excreta as ruminants feed-scope and limitations under Indian conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 19:1-32.
- Jordaan, J.D. (2004). The influence of bedding material and collecting period on the feeding value of broiler and layer litter. Department of Animal, Game and Grassland Science, University of the Free State. South Africa.
- Khalil, I.A., El-Sayaad, G.A.E., Khalil, H.H. and Redman, M. (1995). Inclusion of dehydrated broiler litter in friesian calves diets. 1- Effect on digestibility, body weight gain and feed conversion. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*. 33:137-145.
- Khan, M.J., Alam, M.S., Akbar, M.A. and Kamruzzaman, M. (2008). Broiler litter and layer manure in the diet of growing bull calves. *The Bangladesh Veterinarian*, 25:62- 67.
- Kitching, (1986). The uses and dangers of poultry litter in feeding in cattle. South African Veterinary Association. Biannual Congress, August 1986.
- McDonald, P., Edwards, R.A., and Greenhalgh, J.F.D. (2002). *Animal Nutrition*. 6<sup>th</sup> ed., Longman Group UK, Harlow, UK, Pp 693.
- Mavimbela, D.T., (2000). The nutritional value of broiler litter as a feed source for sheep during periods of feed shortage. PhD Thesis, University of Pretoria.
- McDonald, P., Edwards, R.A. and Greenhalgh, J.F.D. (2002). *Animal Nutrition*. 6<sup>th</sup> ed., Longman Group UK, Harlow, UK, Pp 693.
- Mekasha, Y., Merkel, R.C., Goetsch, A.L., Sahl, T. and Tesfai, K. (2004). Effects of method of offering broiler litter and level of prairie hay intake on growth of Boer × Spanish wethers. *Small Ruminant Research*, 55:123-133.

- Merchen, N.R. (1988). Digestion, absorption and excretion in ruminants. Page 172 in *The Ruminant Animal: Digestive Physiology and Nutrition*. D.C. Church, ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.
- Muia, J.M.K., Tamminga, S., Mbugua, P.N. and Kariuki, J.N. (2001). Effect of supplementing napier grass (*Pennisetum purpureum*) with poultry litter and sunflower meal based concentrates on feed intake and rumen fermentation in Friesian steers. *Animal Feed Science and Technology*, 92:113-126.
- Nahm, K.H., (2003). Evaluation of nitrogen content in poultry manure. *Journal of World Poultry Science*. 59:77-88.
- Naser Sayed, A.B. and Fathy, A.S. (2010). Study on the use of dried poultry litter in the camels ration. *Veterinary Research Forum*, 1:65-71.
- Negesse, T., Patra, A.K., Dawson, L.J., Tolera, A., Merkel, R.C., Sahlu, T. and Goetsch, A.L. (2007). Performance of Spanish and Boer×Spanish doelings consuming diets with different levels of broiler litter. *Small Ruminant Research*, 69:187-197.
- NRC. (1996). *Nutrient Requirements of Beef Cattle*. 7th rev., ed. National Academy of Science, Washington, DC., USA.
- NRC. (2007). *Nutrient Requirements of small ruminants: Sheep, Goats, Cervide, and New World Camelids*. National Academy of Sciences, Washington, DC., USA, Pp. 362.
- Obara, Y. and Dellow, D.W. (1993). Effect of intraruminal infusions of urea, sucrose or urea plus sucrose kinetics in sheep fed chopped Lucerne hay. *Journal of Agricultural Science*, 121:125-130.
- Obeidat, B.S., Awawdeh, M.S., Abdullah, A.Y., Muwalla, M.M., Abu Ishmais, M.A., Telfah, B.T., Ayrou, A.J., Matarneh, S.K., Subih, H.S. and Osaili, T.O. (2011). Effects of feeding broiler litter on performance of Awassi lambs fed finishing diets. *Animal Feed Science and Technology*, 165:15-22.
- Oltjen, R.R., Slyter, L.L., Kozak, A.S. and Williams E.E. (1968). Evaluation of urea, biuret, urea phosphate and uric acid as NPN sources for cattle. *Journal of Nutrition*, 94:193-202.
- Ørskov, E.R. (1992). *Protein in ruminants*. Second ed. Academic press limited London.
- Patil, A.R., Goetsch A.L., Kouakou, B., Galloway, D.L., Forster, L.A. and Park, K.K. (1995). Effects of corn vs. corn plus wheat in forage-based diets containing broiler litter on feed intake, ruminal digesta characteristics and digestion in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 55:87-103.
- Pate, F.M. (1983). *Molasses in beef nutrition*. National Feed Ingredients Association, West Des Moines, Iowa.
- Penner, G.B. and Oba, M. (2009). Increasing dietary sugar concentration may improve dry matter intake, ruminal fermentation, and productivity of dairy cows in the postpartum phase of the transition period. *Journal of Dairy Science*, 92:3341-3353.
- Pugh, D.G., Rankins, D.L., Eason, J.T., Wenzel, J.G.W. and Spano, J.S. (1994). The effect of feeding broiler litter on the serum calcium, phosphorous and magnesium concentration of beef brood cows. *Veterinary Clinics North American Food Animal Practice*, 1:18-22.
- Rankins, D.L., Poore, M.H., Capucille, D.J. and Rogers, G.M. (2002). Recycle poultry bedding as cattle feed. *Veterinary Clinics North American Food Animal Practice*, 18:253-266.
- Robinson, P. H., Getachew, G. and Cone, J. W. (2009) Evaluation of the extent of associative effects of two groups of four feeds using an *in vitro* gas production procedure. *Animal Feed Science and Technology* 150: 9-17.
- Rude, B.J., Rankins, D.L. and Dozier, W.A. (1994). Nitrogen and energy metabolism and serum constituents in lambs given poultry litter processed three deep-staking methods. *Animal Production*, 58(1):95-101.
- Ruffin, B.G. and McCaskey, T.A. (1993). Practical feeding of biodegradable animal wastes to farm animals. *Proceeding Poultry Waste Management and Water Quality Workshop*.
- Russell, J.B. (2002). *Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition*. Cornell university, Ithaca, NY.

- Sahoo, A., Agarwal, N., Kamra, D.N., Chaudhary, L.C. and Pathrak, N.N. (1999). Influence of level of molasses in de-oiled rice bran-based concentrate mixture on rumen fermentation patterns in crossbred cattle calves. *Animal Feed Science and Technology*, 80: 83-90.
- Salter, D.N., Daneshvar, k. and Smith, R.H. (1979). The origin incorporated into compounds in the rumen bacteria of steers given protein and urea containing diets. *British Journal of Nutrition*, 41(1):197-209.
- Sannes, R.A., Messman, M.A. and Vagnoni, D.B. (2002). Form of rumen-degradable carbohydrate and nitrogen on microbial protein synthesis and protein efficiency of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 8:900-908.
- SAS Institute, 2000. SAS/STAT user's guide. SAS Institute Inc, Cary.
- Satter, L.D. and Slyter, L.L. (1974). Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro. *British Journal of Nutrition*, 32:199-208.
- Seo, J.K., Yang, J., Kim, H.J., Upadhaya, S.D., Cho, W.M. and Ha, J.K. (2010). Effect of synchronization of carbohydrate and protein supply on ruminal fermentation, nitrogen metabolism and microbial protein synthesis in Holstein steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 23:1455-1461.
- Smith, L.W. and Cavert, C.C. (1976). Dehydrated broiler excreta versus soybean meal as nitrogen supplements for sheep. *Journal of Animal Science*, 43:1286-1292.
- Sniffen, C.J., O'Connor, J.D., Van Soest, P.J., Fox, D.G. and Russell, J.B. (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science*, 70:3562-3577.
- Synder, L.J.U., Luginbuhl, J.M., Mueller, J.P., Conrad, A.P. and Turner, K.E. (2006). Intake, digestibility and nitrogen utilization of *Robinia pseudoacacia* foliage fed to growing goat wethers. Available online at: [Science direct.com](http://www.science-direct.com).
- Swingle, R.S., Araiza, A. and Urias, A.R. (1977). Nutrition utilization by lambs fed wheat straw alone or with supplement containing dried poultry waste, cotton seed meal or urea. *Journal of Animal Science*, 45:1435-1441.
- Talib, N.H. and Ahmed, F.A. (2008). Performance and carcass characteristics of intact Zebu Bulls fed different levels of deep stacked poultry litter. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(11):1467-1473.
- Tsadik, A.G., Tamir, B. and Melaku, S. (2008). Inclusion of different proportions of poultry litter in the rations of yearling Hararghe Highland Gats. *Livestock Research for Rural Development*, 20 (3).
- Underwood, E.J. (1971). Trace elements in Human and Animal nutrition. Third. Ed. Academic press. P:124.
- Van Houtert, M.F.J. (1993). The production and metabolism of volatile fatty acids by ruminants fed roughage: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 43:189-225.
- Van Ryssen, J.B.J. (2000). Poultry litter as a feed ingredient for ruminant: the South African situation. South African Society of animal science. Available in: [http://www.sasas.co.za/Popular/ Popular.html](http://www.sasas.co.za/Popular/Popular.html)
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch carbohydrate in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 7:3583-3597.
- Van Soest, P.J. (1994). Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press, New York.
- Yashim, S.M., Abdul, S.B. and Jokthan, G.E. (2008) Effects of Supplementing Sorghum Stover with Poultry Litter on Performance of Wadara Cattle. *American Eurasian Journal of Agronomy*, 1:16-18.
- Wright, P.A. (1995). Review: Nitrogen excretion: three end product, many physiological roles. *Journal of Experimental Biology*. 198:273-281.
- Zinn, R.A., Barajas, R., Montano, M. and Shen, Y. (1996). Protein and energy values in dehydrated poultry excreta for feedlot cattle. *Journal of Animal Science*, 74:2331-2335.

## فصل پنجم

### پیوست ها

#### اندازه گیری اسیدهای چرب فرار

محلول ۲- اتیل بوتیریک اسید به عنوان استاندارد داخلی استفاده گردید. مرحله اول شامل آماده سازی نمونه‌ها در داخل لوله‌های ۲ میلی لیتری "پندورف" بوده و مرحله بعدی قرائت میزان اسیدهای چرب فرار بر حسب میلی مول در لیتر می‌باشد. این فرایند دارای دو مرحله است:

۱- آماده سازی نمونه، ۲- انجام آزمایش اندازه گیری اسید چرب فرار زنجیر کوتاه توسط گاز کروماتوگرافی.

مرحله اول: آماده سازی نمونه‌ها

روش کار و محلول‌های مورد نیاز:

۱- محلول اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر، ۲- اتیل بوتیریک اسید ۲۰ میلی مولار، ۳- محلول OPAEB

#### ۱- تهیه اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد

از آن جایی که اورتوفسفریک خالص موجود در آزمایشگاه ۸۵ درصد است لذا با استفاده از فرمول زیر مقدار مورد نیاز جهت تهیه اورتوفسفریک ۲۰ درصد محاسبه شد (چند میلی لیتر از اورتوفسفریک ۸۵ درصد را برداشته و با به حجم رسانیدن اورتوفسفریک ۲۰ درصد تهیه می‌شود).

$$N_1.V_1=N_2.V_2$$

$$85\%. V_1=20\% . 100$$

$$V_1=23.529 \text{ ml}$$

در صورتی که حجم ۲۳/۵۲۹ میلی لیتر اسید اورتوفسفریک ۸۵ درصد توسط ۷۶/۴۷ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰۰ رسانیده شود، ۱۰۰ میلی لیتر اورتوفسفریک ۲۰ درصد بدست می‌آید.

#### ۲- اتیل بوتیریک اسید ۲۰ میلی مولار

محلول ۲- اتیل بوتیریک اسید، به عنوان اسید چرب زنجیر کوتاه استاندارد داخلی در این آزمایش به کار برده شد. وزن مولکولی ۲- اتیل بوتیریک اسید ۱۱۶/۱۶ می‌باشد. بنابراین ۲/۳۲۳ گرم به مول از این اسید معادل ۲۰ میلی مولار ۲- اتیل بوتیریک اسید می‌باشد. به دلیل اینکه درجه خلوص ۲- اتیل بوتیریک اسید ۰/۹۹٪ است، بنابراین:

$$2/323 \div 0/99 = 2/35 \text{ g}$$

پس ۱ گرم از ۲- اتیل بوتیریک اسید معادل ۱ میلی لیتر از این اسید می‌باشد.

۱- ۲۳۵ میکرولیتر از این اسید (۲- اتیل بوتیریک اسید) به ۱۰۰ میلی لیتر از اورتوفسفریک اسید ۲۰ درصد اضافه می‌شود و مخلوط این دو اسید (OPAEB) نامیده می‌شود.

$$\text{OPAEB} = 235 \text{ میکرولیتر } 2\text{- اتیل بوتیریک اسید} + 100 \text{ میلی لیتر اورتوفسفریک اسید } 20$$

۲- محلول بالا (OPAEB) می‌بایستی به خوبی مخلوط گردد.

۳- ۱/۵ میلی لیتر از هر نمونه (مایع شکمبه) با ۰/۳۷۵ میلی لیتر محلول (OPAEB) (۳۷۵ میکرولیتر) درون میکروتیوب های ۲ میلی لیتری ریخته شد به نحوی که نسبت نهایی مایع شکمبه به محلول تهیه شده ۴ به ۱ بود (۴ مایع شکمبه به ۱ محلول OPAEB).

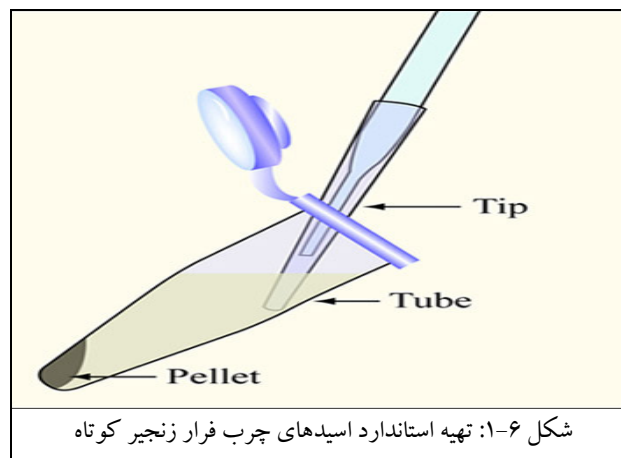
۴- مخلوط حاصل ورتکس شد تا به خوبی همگن گردد.

۵- در نهایت محتویات درون میکروتیوب‌ها (مخلوط مایع شکمبه و محلول OPAEB) با دور rpm ۱۴۰۰۰ برای ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید.

۷- محلول رویی (Supernatant) حاصل از سانتریفیوژ جهت ذخیره در دمای ۲۰- سانتیگراد نگهداری شد تا بعداً اسیدهای چرب آن را توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی قرائت شود.

#### مرحله دوم: قرائت توسط دستگاه گاز کروماتوگرافی

برای تعیین محل پیک هر یک از اسیدهای چرب مورد مطالعه ابتدا استاندارد هر یک از اسیدهای چرب فرار اسیداستیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک، والریک، اسید و اسید استاندارد ۲- اتیل بوتیریک اسید به شرح زیر تهیه شد (شکل ۶-۱).



مقدار ۱ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر و ۵ میکرولیتر از هر کدام از اسیدهای چرب زنجیر کوتاه خالص در داخل لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته و به خوبی یکنواخت شد. سپس ستون مویی (کاپیلاری) روی دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) نصب نموده و مقادیر ۰/۲ میکرولیتر از هر استاندارد تهیه شده به ترتیب اسیداستیک، اسید پروپیونیک، اسید بوتیریک، ایزووالریک، والریک اسید و اسید استاندارد ۲- اتیل بوتیریک به دستگاه تزریق گردید.

بعد از تزریق، زمان تشکیل پیک مورد نظر را مشخص نموده و نتایج به صورت چاپ شده دریافت گردید. در پایان آزمایش، دستگاه زمان‌های زیر را برای هر پیک نشان داد. بعد از تشخیص زمان تشکیل هر پیک برای هر اسید چرب فرار، اقدام به تزریق ۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه مورد آزمایش به دستگاه شد.

جدول ۶-۱- زمان تشکیل پیک اسیدهای چرب فرار کوتاه زنجیر

ردیف	اسید چرب فرار	زمان تشکیل پیک/ دقیقه	تعداد کربن	فرمول شیمیایی
۱	اسید استیک	۰/۶۸۳	C <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> COOH
۲	اسید پروپیونیک	۱/۱۰	C <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH
۳	اسید بوتیریک	۱/۵۵۸	C <sub>4</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
۴	اسید ایزو والریک	۱/۷۹۲	C <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH
۵	اسید والریک	۲/۱۶۷	C <sub>5</sub>	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> COOH
۶	۲- اتیل بوتیریک اسید	۲/۲۵۸	C <sub>4</sub>	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> CHCOOH

تقریباً زمان اتمام قرائت کامل هر تزریق ۱۵ دقیقه می باشد. به منظور جلوگیری از بروز خسارت به ستون مویی و افزایش دقت در برآورد مقدار هر اسید چرب ضرورت دارد مدت ۱۵ دقیقه کامل برای هر تزریق رعایت شود. با استفاده از فرمول زیر مقدار هر یک از اسیدهای چرب فرار زنجیر کوتاه محاسبه شد (ستیوارت و دانکن<sup>۸۷</sup>، ۱۹۸۵).

$$VFA_{mM} = \frac{xArea \times \left[ \frac{20mM}{Int.Area} \right]}{W_{RF}}$$

$VFA_{mM}$ : مقدار اسید میلی مولار،  $xArea$ : سطح زیر پیک اسید چرب مجهول  
 $Int. Area$ : سطح زیر پیک اسید اینترنال،  $W_{RF}$ : وزن ۱/۵ میلی لیتر مایع شکمبه که برابر با ۱/۵۲ گرم است

#### اندازه گیری آمونیاک مایع شکمبه

ابتدا از هر گوسفند مقدار ۲۰ میلی لیتر مایع شکمبه گرفته شد و با استفاده از چهار لایه پارچه متقال صاف گردید. سپس این شیرابه با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال (۱۶/۵ میلی لیتر HCl با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شود) به نسبت ۵ به ۱ (پنج شیرابه به یک HCl ۰/۲ نرمال) رقیق گردید و تا روز آزمایش فریز شد.

#### ۱- محلول های مورد نیاز

الف) هیپوکلریت قلیایی: برای ساخت این محلول به روش زیر عمل شد:

۱- ۱۵ گرم سود در ۲ لیتر آب مقطر حل گردید.

۲- سپس ۱۱۳/۶ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات ۷آبه ( $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ ) اضافه شد و به وسیله حرارت ملایم مخلوط شدند.

۳- مخلوط سرد شد و ۱۵۰ میلی لیتر محلول ۵/۲۵ درصد هیپوکلریت سدیم به آن اضافه گردید.

۴- محلول بالا با آب مقطر به حجم ۳ لیتر رسانده شد.

۵- سپس بوسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عمل فیلتر انجام شد و در بطری پلی اتیلنی و دور از نور در دمای ۶-۲ درجه سانتیگراد نگهداری شد (محلول حاصل برای ۸ ماه قابل نگهداری و استفاده می باشد).

ب) محلول فنول:

۱- ۰/۱۵ گرم سدیم نیتروفریسیانید (سدیم نیتروپروسید) (Sodium Nitroprusside) (Sodium Nitroprusside) در

۱/۵ لیتر آب مقطر حل شد.

۲- ۳۳ میلی لیتر فنول مایع ۹۰٪ به آن اضافه گردید.

۳- عمل مخلوط انجام شد و با آب مقطر به حجم ۳ لیتر رسانده شد.

۴- محلول حاصل در بطری شیشه ای قهوه ای رنگ در دمای ۶-۲ درجه سانتیگراد نگهداری شد (این محلول برای ۸ ماه قابل نگهداری و استفاده است).

ج) استاندارد آمونیاک (محلول استوک ۱۰۰ میلی مولار آمونیاک):

برای ساخت این محلول، ۰/۶۶۰۷ گرم سولفات آمونیوم (این ترکیب به علت داشتن رطوبت به مدت یک شب در ۱۰۰ درجه

سانتیگراد خشک شود) در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر ۰/۱ نرمال اسید کلریدریک (۸/۲۵ میلی لیتر HCl با آب مقطر به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شود) حل گردید.

## ۲- سری محلول‌های استاندارد

جهت آماده‌سازی محلول‌های استاندارد ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶ و ۰/۸ میلی مولار با رقیق‌سازی نسبت‌های مختلف محلول استوک تهیه گردید:

- ۱- محلول استاندارد صفر میلی مولار: ۱۰ میلی لیتر آب مقطر (بدون نیاز به استوک)
  - ۲- محلول استاندارد ۰/۱ میلی مولار: ۰/۱ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.
  - ۳- محلول استاندارد ۰/۲ میلی مولار: ۰/۲ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.
  - ۴- محلول استاندارد ۰/۴ میلی مولار: ۰/۴ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.
  - ۵- محلول استاندارد ۰/۶ میلی مولار: ۰/۶ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.
  - ۶- محلول استاندارد ۰/۸ میلی مولار: ۰/۸ میلی لیتر از محلول استوک ساخته شده بالا با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی لیتر رسانیده شد.
- (د) مایع شکمبه:

## ۳- روش کار

ابتدا ۳ میلی لیتر مایع شکمبه درون لوله‌های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و برای ۱۰ دقیقه عمل سانتریفیوژ با ۱۵۰۰ دور در دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌ها به مقدار کافی رقیق شدند. مقدار ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه یا استاندارد در لوله آزمایش ریخته (بلانک ۵۰ میکرولیتر آب مقطر است)، سپس به هر کدام مقدار ۲/۵ میلی لیتر محلول فنول و ۲ میلی لیتر هیپوکلریت قلیایی پیت شد. ورتکس انجام شد و برای ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد (۵ دقیقه در ۹۰ درجه سانتیگراد) قرار داده شد. پس از خنک شدن، جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد.

محاسبات:

انتقال داده‌ها بر روی نرم‌افزار EXCEL، رسم منحنی استاندارد و تعیین معادله رگرسیون، با توجه به این معادله مقدار هریک از نمونه‌ها تعیین شد.

## تعیین مشتقات پورینی:

### ۱- رقیق‌سازی نمونه‌های ادرار

نمونه‌های ادراری که قبل از ذخیره‌سازی رقیق شده بود، دوباره بر روی آن‌ها رقیق‌سازی انجام گرفت. رقیق‌سازی مجدد به این دلیل بود که غلظت نمونه‌های نهایی باید در دامنه‌ی استانداردها قابل اندازه‌گیری باشد. به طور معمول برای این که غلظت تک تک مشتقات پورینی نمونه‌ها در دامنه استانداردها (۴۰-۱۰ میلی گرم در لیتر) قابل اندازه‌گیری باشد، نمونه‌های ادرار برای اندازه‌گیری آلانتوئین به طور معمول ۶۸-۱۷ بار (متوسط ۵۵ بار) و برای اسید اوریک ۱۲-۳ بار (متوسط ۵ بار) با آب مقطر رقیق شد. برای این کار از ۴ عامل شامل: مصرف خوراک روزانه، ماده خشک جیره، ماده آلی جیره و قابلیت هضم ماده آلی استفاده شد و رقیق‌سازی طبق مراحل زیر تعیین گردید:

الف) تعیین ماده آلی قابل هضم در شکمبه (DOMR) Digestible Organic Matter Fermented in the (Rumen=)

$$\text{MOMR} = \text{feed intake} \times \text{DM content} \times \text{OM content} \times t \text{ OM digestibility} \times 0.65$$

(ب) محاسبه نیتروژن میکروبی (Microbial Nitrogen= MN)

$$\text{MN} = 32\text{g/kg DOMR}$$

(پ) محاسبه مقدار مشتقات پورینی جذب شده بوسیله حیوان (Pa)

$$\text{Pa (mmol/d)} = \text{MN (gM/d)} \div 0.727$$

(ت) محاسبه مشتقات پورینی دفع شده (PDe) Purine Derivatives Excretion=

$$\text{PDe} = 0.84 \text{ Pa} + 2$$

(۲) مقدار مشتقات پورینی آندوژنوس (mmol/d)



س) محاسبه آلانتوئین دفع شده (Allantoin Excretion= Ae)

$$Ae \text{ (mmol/d)} = PDe \times 0.85$$

ج) محاسبه اسید اوریک دفع شده (Uric Acid Excretion= UAe)

$$UAe \text{ (mmol/d)} = PDe \times 0.15$$

ه) محاسبه فاکتور رقت (Dilution Factor)

آلانتوئین:

$$\text{Allantoin (mg/L of urine)} = Ae \text{ (mg/d)} \div \text{urine produced daily}$$

اسید اوریک:

$$\text{Uric acid (mg/L of urine)} = UAe \text{ (mg/d)} \div \text{urine produced daily}$$

## ۲- اندازه گیری آلانتوئین به وسیله روش رنگ سنجی (Colorimetric Method)

در این روش ابتدا آلانتوئین تحت شرایط بازی ضعیف در دمای بالا هیدرولیز شده و اسید آلانتوئیک تولید می گردد. این اسید در محیط اسیدی ضعیف به اوره و اسید گلای اگزالیک تبدیل می شود. اسید گلای اگزالیک با فنیل هیدرازین هیدروکلرید واکنش داده و فنیل هیدرازون تولید می گردد. این واکنش به واکنش رمینی-اسکریور معروف است.

### ۱-۲- دستگاه های مورد نیاز

اسپکتروفتومتر، بن ماری التراسونیک و آب گرم در حال جوش.

### ۲-۲- مواد مورد نیاز

- سود ۰/۵ مولار- سود ۰/۰۱ مولار- اسید کلریدریک ۰/۵ مولار- فنیل هیدرازین
- هیدروکلرید ۰/۰۲۳ مولار به صورت تازه - پتاسیم فریک سیانید ۰/۰۵ مولار به صورت تازه
- اسید کلریدریک ۱۱/۴ نرمال سرد شده حداقل در ۲۰ دقیقه قبل از استفاده- حمام الکل ۰/۴۰ نگهداری شده یا محلول اشباع آب و نمک نگهداری شده در دمای ۲۰- درجه سلسیوس- استاندارد آلانتوئین (شرکت سیگما)

### ۳-۲- تهیه استاندارد

الف- ابتدا ۵۰ میلی گرم آلانتوئین در ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل شد و سپس به وسیله آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد.

ب- برای تهیه ۵۰ میلی لیتر استاندارد با غلظت های ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ میلی گرم در لیتر، به ترتیب ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ میلی لیتر از محلول فوق درون بالون های ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.

ج- استانداردها در داخل فریز نگهداری و در موقع لزوم یخ گشایی و مورد استفاده قرار گرفت (بهتر است استانداردها روزانه و به صورت تازه تهیه شوند).

### ۴-۲- تهیه محلول فنیل هیدرازین هیدروکلرید

مقدار ۰/۱۶۶۳ گرم از فنیل هیدرازین هیدروکلرید در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.

### ۵-۲- تهیه محلول پتاسیم فریک سیانید

مقدار ۰/۸۳۵ گرم از پتاسیم فریک سیانید در ۲۵ میلی لیتر آب مقطر حل گردید و به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد (این مقدار ۵۰ میلی لیتر برای ۱۰ نمونه به ۲ تکرار کافی است).

قبل از آنالیز موارد زیر در نظر گرفته شود:

- الکل یا آب نمک اشباع به مدت یک شب داخل فریزر قرار داده شده باشد.

- اسید کلریدریک غلیظ فقط قبل از استفاده داخل فریزر قرار داده شده باشد.

- بن ماری آب جوش روشن شده باشد.
- اگر نمونه‌ها دارای رسوب‌اند، نمونه‌ها در بن ماری اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شود تا ذرات ته نشین شده شکسته شوند.
- محلول فنیل هیدرازین هیدروکلرید و پتاسیم فریک سیانید به صورت تازه تهیه شود.

## ۲-۶- روش کار

- این روش نیازمند ثبت دقیق زمان برای انجام واکنش‌ها می‌باشد. قرائت استانداردها باید در کمترین زمان ممکن صورت گیرد، زیرا با گذشت زمان میزان جذب کاهش می‌یابد. بنابراین، در هر بار قرائت، نمونه‌ها نباید بیشتر از ۱۰ عدد به صورت دوتایی باشد:
- ۱- مقدار یک میلی‌لیتر از نمونه، استاندارد و آب مقطر (شاهد) درون لوله‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد.
  - ۲- به هر لوله ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد.
  - ۳- یک میلی‌لیتر سود ۰/۵ مولار اضافه گردید.
  - ۴- محتویات لوله‌ها توسط همزن به خوبی مخلوط شد.
  - ۵- لوله‌ها ۷ دقیقه در آب جوش قرار داده شد.
  - ۶- لوله‌ها از آب جوش خارج شده و در آب سرد خنک شد.
  - ۷- به هر لوله ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۵ مولار اضافه شد (در این مرحله مقدار pH باید بین ۲-۳ باشد).
  - ۸- یک میلی‌لیتر از محلول فنیل هیدرازین هیدروکلرید به لوله‌ها اضافه و مخلوط انجام شد و دوباره به مدت ۷ دقیقه لوله‌ها در آب جوش قرار داده شد.
  - ۹- لوله‌ها از آب جوش خارج شده و به منظور کم کردن سرعت واکنش از طریق کاهش دما، در حمام سرد الکل یا آب و نمک یخ زده به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد.
  - ۱۰- مقدار ۳ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک ۱۱/۴ نرمال به هر لوله اضافه شد.
  - ۱۱- مقدار یک میلی‌لیتر از محلول پتاسیم فریک سیانید به هر لوله اضافه شده و پس از مخلوط کردن محتویات لوله‌ها، بعد از ۲۰ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۵۲۲ نانومتر خوانده شد.
  - ۱۲- فاصله بین قرائت استانداردها و نمونه‌ها باید در کمترین زمان ممکن صورت گیرد.
- نکته: بین مراحل ۸ تا ۱۲ نباید فاصله زمانی پیش بیاید (مراحل باید پشت سر هم انجام شود).

## ۲-۷- محاسبات

انتقال داده‌ها بر روی نرم‌افزار EXCEL و رسم منحنی استاندارد و جذب نوری خوانده شده برای هر نمونه، مقدار آلانتوئین هر یک از نمونه‌ها تعیین شد.

## ۳- تعیین گزانتین به علاوه هیپوگزانتین به روش آنزیمی

### ۳-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

- بافر دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات ۰/۲ مولار با pH= ۷/۳۵. تنظیم pH باید فقط با  $H_3PO_4$  یا KOH صورت گیرد.
- ال-هیستیدین ۴/۳ میلی مولار (۶۶/۸ میلی گرم ال-هیستیدین در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد).
- زانتین اکسیداز: ۲۵ میکرولیتر از محلول زانتین اکسیداز به ۳ میلی لیتر بافر اضافه شد. (شرکت سیگما، شماره X-1875. این آنزیم ۵۰ واحد (Unit) بوده و حاوی ۲/۶ میلی لیتر محلول می‌باشد که قبل از استفاده باید در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود)
- اسید اوریک

### ۳-۲- تهیه محلول اسید اوریک

۱- ۵۰ میلی گرم اسید اوریک در ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل گردید و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۲- برای تهیه ۵۰ میکرو لیتر استانداردهای ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی گرم در لیتر، به ترتیب ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی لیتر از محلول بالا درون بالن های ۵۰ میلی لیتری به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۳- استانداردها را در فریزر قرار داده و در موقع لزوم به مقدار لازم برداشته و یخ گشایی می کنیم که به صورت تازه در دسترس باشند.

### ۳-۳- روش کار

ابتدا درون لوله های ۱۵ میلی لیتری یک میلی لیتر از هر نمونه، استانداردهای تهیه شده و آب مقطر به عنوان شاهد ریخته شد. این محلول ها در ۲ سری تهیه گردید. سپس به ترتیب ۲/۵ و ۰/۳۵ میلی لیتر بافر فسفات و ال-هیستیدین اضافه شد و مخلوط شد. در سری اول ۱۵۰ میکرو لیتر بافر و در سری دوم ۱۵۰ میکرو لیتر محلول زانتین اکسیداز اضافه شد و پس از مخلوط کردن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار داده شد. سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۳ نانومتر خوانده شد.

### ۳-۴- محاسبات

از جذب نوری استانداردهایی که به آن ها زانتین اکسیداز اضافه نشده است جهت بدست آوردن معادله استاندارد استفاده می شود. پس از بدست آوردن معادله  $x, y$  لگاریتم طبیعی  $(\ln)$  را محاسبه کرده معادله خطی زیر بدست می آید:

$$\ln(y) = a + \ln(x)$$

میزان افزایش جذب نوری نمونه ها ( $\Delta OD$ ) را در اثر افزودن آنزیم زانتین اکسیداز ( $XO$ ) محاسبه شد:

$$\Delta OD = (\text{میزان جذب بدون افزودن } XO) - (\text{میزان جذب با افزودن } XO)$$

با استفاده از  $\Delta OD$  محاسبه شده و بر اساس  $a, b$  محاسبه شده در معادله استاندارد میزان غلظت نمونه های مجهول طبق رابطه زیر محاسبه می شود:

$$C = \text{Exp}((\ln(\Delta OD) - a)/b)$$

$C$ : میزان غلظت نمونه های مجهول،  $\Delta OD$ : میزان افزایش جذب در اثر افزودن آنزیم زانتین اکسیداز،  $a$ : عرض از مبدا،  $b$ : شیب خط.

### ۴- تعیین اسید اوریک به وسیله روش آنزیمی اوریکاز

#### ۴-۱- مواد شیمیایی مورد نیاز

- بافر دی هیدروژن پتاسیم فسفات ۰/۶۷ مولار و با  $pH = 9/4$  تنظیم فقط با  $KOH$  صورت گیرد.

- آنزیم اوریکاز (شرکت سیگما، شماره U-9375)

- اسید اوریک

#### ۴-۲- تهیه استاندارد

۱- ۵۰ میلی گرم اسید اوریک در ۱۰۰ میلی لیتر سود ۰/۰۱ مولار حل گردید و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی لیتر رسانیده شد.

۲- برای تهیه ۵۰ میلی لیتر استانداردهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی گرم در لیتر، به ترتیب ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۳۰ میلی لیتر از محلول بالا درون بالن های ۵۰ میلی لیتری به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانیده شد

۳- حجم کمی از هر استاندارد در فریزر تا زمان استفاده ذخیره شد.

#### ۴-۳- تهیه آنزیم

با استفاده از بافر فسفات محلولی ساخته شد که به ازاء ۱ میلی لیتر ۰/۱۲ واحد اوریکاز داشته باشد. برای جلوگیری از فعالیت آنزیمی، محلول آنزیمی در یخچال قرار داده شد.

#### ۴-۴- روش کار

دو سری از استاندارد و شاهد و نمونه آماده شد.

۱- ۲/۵ میلی لیتر از استاندارد، نمونه و آب مقطر درون لوله های ۱۰ میلی لیتری ریخته شد.

۲- ۱ میلی لیتر بافر فسفات اضافه گردید و محتوای لوله ها به وسیله ورتکس مخلوط شد.

۳- در سری اول، ۱۵۰ میکرولیتر بافر و در سری دوم ۱۵۰ میکرولیتر محلول اوریکاز اضافه شد. دوباره به وسیله ورتکس مخلوط کردن انجام شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۹۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از برداشتن نمونه ها از بن ماری دوباره مخلوط کردن انجام و سپس به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب نوری در طول موج ۲۹۳ نانومتر خوانده شد. (اگر تغییرات آنزیمی لوله ها کامل شود جذب استانداردهای حاوی آنزیم اوریکاز باید صفر شود، در غیر این صورت نمونه ها را مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری آب گرم قرار داده و مجدداً جذب نوری قرائت می شود).

#### ۴-۵- محاسبات

با استفاده از نرم افزار EXCEL منحنی استاندارد رسم و با توجه به آن مقدار اسید اوریک هر یک از نمونه ها تعیین شد.

## **Effect of different levels of molasses in the diet containing processed poultry litter on the digestibility and metabolizable energy in sheep**

This research was conducted to determine the influence of supplementing processed poultry litter (PPL) with different carbohydrate sources (*i.e.*, corn, barley or molasses) on the nutrients digestibility, microbial protein (MP) production, ruminal parameters and blood metabolites in sheep. In a complete randomized experiment, three iso-nitrogenous and iso-caloric diets were tested on 15 mature moghani male sheep. All diets contained similar proportion of wheat straw (26%), alfalfa hay (26%) and PPL (24%). The remaining portion provided by corn (12%) and barley (12%) grain in first diet (as control) but sugar beet molasses was included in the other diets (5% for diet 2 and 10% in diet 3). The digestibility of DM and CP were linearly increased ( $P=0.01$ ) by addition of molasses to the diets. However the digestibility of OM, NDFom, ADFom, DOMD and metabolizable energy were not affected by inclusion of molasses in the diets. The amount of absorbed and excreted allantoin, xanthine+hypoxanthine, uric acid and microbial protein (MP) were linearly increased (L,  $P<0.05$ ) by addition of molasses to the diets. However, sheep fed molasses diet had lower ( $P<0.05$ ) ruminal pH and ammonia concentration than those fed with control diet. Including of various carbohydrate sources in the diets did not affect the volatile fatty acid (VFA) concentrations, except for total VFA and molar proportion of butyrate which increased ( $P<0.05$ ) by the diets containing molasses. From blood metabolites only the blood urea-N concentration in sheep fed diet containing molasses was lower ( $P<0.05$ ) than control diet. In conclusion, adding molasses up to 10 percent, to PPL-containing diet led to improvement in nutrient digestibility and MP production in sheep.

**Keywords:** processed poultry litter, sugar beet molasses, ruminal biosynthesis, sheep

**Title: Effect of different levels of molasses in the diet containing processed poultry litter on the digestibility and metabolizable energy in sheep**

Approved No : **2-13-13-91170**

Research Worker : **Hassan Fazaeli**

Research Fellow (S) : **Nader Papi, Hosain Gholami, Ahmad Akbari Kaleh-Sar and Ayyoub Azizi-Shotorkhoft**

Research Institute : **Animal Science Research Institute (ASRI)**

Publisher : **Animal Science Research Institute (ASRI)**

Circulation : **20**

Date of Publishing : **July 2014**

This Scientific work has been registered with the registration number of 4/jan/2015 46409 in the Agricultural Information and Scientific Documents Center.

All rights reserved. No part of this publication may reproduce or transmitted without the original reference.



Ministry of Jahade-Keshavarzi  
Agricultural Research, Education and Extension Organization  
**Animal Sciences Research Institute**

**FINAL REPORT OF RESEARCH PLAN**

**Effect of different levels of molasses in the diet containing  
processed poultry litter on the digestibility and  
metabolizable energy  
in sheep**

**Hassan Fazaeli**

**Published in:2015  
R/N:46409**