مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۴، شماره ۴، سال ۱۳۸۲ (۸۶۹-۸۶۳)

تخمین نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک بره‌های نر بلوچی با استفاده از روش جدید جداسازی مشتقات بازهای پورینی ادراری با دستگاه HPLC

محسن دانش مسگران[۱]، فروزان طباطبائی[۲]، محمدمهدی شریعتی[۳] و ابوالقاسم گلیان[٤]
۱، ٤، اعضای هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
۲، کارشناس ارشد شیمی گروه علوم دامی – دانشکده کشاورزی
۳، کارشناس ارشد علوم دامی – دانشکده کشاورزی
تاریخ پذیرش مقاله ۸۱/۸/۸

خلاصه

در این آزمایش به منظور تخمین نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک بره‌های نر بلوچی که دوبار در روز (صبح و بعد از ظهر) با خوراک‌های حاوی منابع مختلف پروتئینی (یونجه، کنجاله تخم پنبه، کنجاله سویا و یا مخلوط اوره + ملاس) و مقادیر متوازن پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه (۸۹ گرم به ازای هر بره در روز) تغذیه می‌شدند، مشتقات بازهای پورینی ادراری با استفاده از روش جدید کروماتوگرافی مایع با کارآیی زیاد (HPLC) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این، میزان pH و نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه نیز در قبل از غذای صبحگاهی و ۱، ۲، ۳، ٤ و ٦ ساعت بعد از آن تعیین شد. نتایج حاصل نشان داد که میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک در دامنه ٦/۳ تا ۹/۸ (SEM=۲/۲) گرم به ازای هر بره در روز قرار داشت و به لحاظ آماری نیز تحت تأثیر معنی‌دار خوراکهای آزمایشی نبود. در تمام ساعتهای نمونه‌برداری بیشترین میزان pH مایع شکمبه در نمونه‌های قبل از مصرف خوراک (٦/٤٧±۰/۳)وکمترین آن در ۲ تا ۳ ساعت بعد از آن (۵/۹٤±۰/۲۵) مشاهده شد. میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در ساعتهای ۱ و ۲ در بره‌های تغذیه شده با خوراک حاوی ملاس + اوره(به ترتیب ٤۰/۳۹ و ۳۳/۰٦ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) به طور معنی‌داری بیش از سایر مشاهدات بود (P<۰/۰۵).

واژه‌های کلیدی: نیتروژن میکروبی، بازهای پورینی، HPLC

مقدمه

در تغذیه نشخوارکنندگان تعیین میزان پروتئین میکروبی تولید شده در شکمبه که همراه با شیرابه هضمی وارد روده باریک حیوان می‌گردد از اهمیت زیادی برخوردار است(۱۰، ۱۴، ۱۵). بدین لحاظ تاکنون تلاشهای زیادی برای بهترین روش اندازه‌گیری پروتئین میکروبی وارد شده به روده باریک انجام گرفته که امروزه استفاده از مشتقات بازهای پورینی ادراری و به ویژه آلانتونین به لحاظ سهولت در نمونه‌برداری در اکثر مطالعات مربوط به تغذیه نشخوارکنندگان مورد توجه می‌باشد (۲، ۳). اساس این روش بر این فرضیه استوار است که بیش از ۹۹درصد آدنین و گوانین خوراک مصرفی توسطنشخوارکنندگان در شکمبه تجزیه شده و لذا بازهای پورینی وارد شده به روده باریک نشخوارکنندگان عمدتا منشاء میکروبی داشته که به طور متوسط با ضریب ۸۳ درصد هضمو۸۰ درصد جذب می‌گردد(۷). این ترکیبات در بدن مورد سوخت و ساز قرار گرفته و به صورت مشتقات بازهای پورینی شامل آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین و هیپوگزانتین عمدتا از طریق ادرار دفع می‌گردند (۲). علاوه بر این گزارش شده است که بیش از ۹۰ درصد این مشتقات را آلانتوئین تشکیل داده و لذا می‌توان تنها با تخمین آن میزان پروتئین میکروبی وارد شده به روده باریک را تعیین نمود(۷، ۹).

مکاتبه کننده: محسن دانش مسگران

Archive of SID
www.SID.ir

هدف از انجام این آزمایش تخمین پروتئین میکروبی وارد شده به روده باریک بره‌های نر بلوچی تغذیه شده با خوراکهای حاوی منابع مختلف پروتئینی (یونجه، کنجاله سویا، کنجاله تخم پنبه و یا مخلوط اوره + ملاس) با مقادیر متوازن پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه بود که برای این منظور از روش جدید کروماتوگرافی مایع با کارآیی زیاد (HPLC) که در آزمایشگاه نویسندگان این مقاله توسعه داده شد، استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با استفاده از ۴ رأس بره نر بلوچی دارای فیستوله شکمبه‌ای با متوسط سن ۱۰±۲۰۰ روز و وزن ۲/۳±۴۳ کیلوگرم در قالب طرح مربع لاتین با ۴ دوره و ۴ خوراک آزمایشی (تیمارهای آزمایشی) انجام شد. خوراک‌های آزمایشی (در جدول ۱ میزان مصرف و ارزش مواد مغذی و خوراک نشان داده شده است) به گونه‌ای تنظیم شده بودند که به لحاظ میزان پروتئین قابل تجزیه مؤثر[1] (ERDP) و انرژی قابل متابولیسم قابل تخمیر[2] (FME) متوازن بودند. میزان ERDP خوراکها بر اساس اطلاعات مربوط به تجزیه‌پذیری مواد خوراکی تعیین گردید (کریمی و دانش مسگران، اطلاعات منتشر شده). خوراکهای آزمایشی به گونه‌ای طراحی شدند که هر یک از منابع پروتئینی کنجاله سویا، کنجاله تخم پنبه و یا مخلوط اوره + ملاس جایگزین ۵۰ درصد ERDP یونجه گردیدند. اقلام هر یک از خوراکهای آزمایش حاوی یکی از منابع پروتئینی به طور کامل با یکدیگر مخلوط گردیدند. بره‌ها دو نوبت در روز و در ساعتهای ۱۸/۰۰ و ۱۷/۰۰ با مقادیر مساوی و بر اساس ۱/۵ برابر احتیاجات نگهداری تغذیه شدند. هر یک از بره‌ها در طول آزمایش کل خوراک را مصرف می‌کرد. هر دورهٔ آزمایشی شامل ۱۰ روز تغییر خوراک، ۱۰ روز عادت‌پذیری و ۵ روز نمونه‌برداری بود. در روز اول هر دوره نمونه برداری، نمونه‌های مایع شکمبه با استفاده از شلنگی که از طریق فیستوله به داخل شکمبه فرستاده شده بود، تهیه گردید. نمونه‌برداری از مایع شکمبه در ساعت‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۶ بعد از تغذیه صبحگاهی انجام شد و pH مایع شکمبه بلافاصله بعد از نمونه‌گیری اندازه‌گیری گردید. پس از آن ۵ میلی‌لیتر از مایع شکمبه با ۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال برای تعیین نیتروژن آمونیاکی مخلوط گردید و تا زمان تجزیه آزمایشگاهی در یخچال ۴ درجه سانتی‌گرادنگهداری‌شد.نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه با استفاده ازدستگاه‌اتوماتیک‌کجلدال(KJELTEC Auto 1030 Analyzer) تعیین شد.

جدول ۱- مواد تشکیل دهنده و ترکیبات مغذی خوراک‌های مورد آزمایش (گرم ماده خشک مصرفی در روز)

مواد خوراکی	یونجه	کنجاله سویا	کنجاله تخم‌پنبه	ملاس + اوره
یونجه خشک	۴۱۰	۱۹۵	۱۹۵	۱۹۵
جو بلغور شده	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰	۲۴۰
تفاله خشک چغندرقند	۱۷۰	۲۱۰	۲۱۰	۲۱۰
کنجاله سویا	—	۸۴	—	—
کنجاله تخم پنبه	—	—	۱۱۸	—
ملاس	—	—	—	۷۷
اوره	—	—	—	۹
مواد مغذی مصرفی در روز				
ماده خشک (گرم)[a]	۸۲۰	۷۲۹	۷۳۶	۷۳۱
ماده آلی (گرم)[a]	۷۷۷	۶۹۵	۷۲۵	۶۹۰
الیاف خام (گرم)[a]	۱۶۴	۱۱۲	۱۳۰	۱۰۶
دیواره سلولی (گرم)[a]	۲۸۶	۲۲۱	۲۴۸	۲۰۵
پروتئین خام (گرم)[a]	۱۱۶/۵	۱۲۱	۱۲۴	۱۱۷/۵
پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه (گرم)[a]	۸۹	۸۹/۶	۸۹/۲	۸۹/۱
پروتئین تجزیه نشده قابل هضم (گرم)[a]	۲۲/۵	۲۸/۸	۲۹/۲	۱۶/۴
انرژی متابولیسمی (مگاژول)[b]	۸/۹	۸/۷	۸/۹	۸/۶
انرژی متابولیسمی قابل تخمیر (مگاژول)[b]	۸/۶	۸/۴	۸/۴	۸/۴

a) تعیین شده در آزمایشگاه

b) محاسبه شده از جدول‌های استاندارد ARC (۱۹۹۲)

نویسندگان مقاله

ادرار دفعی روزانه هر بره در ظرف حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱۰٪ به طور روزانه جمع‌آوری و حجم آن مشخص گردید. بعد از چهار روز نمونه‌برداری مقدار ۵٪ از ادرار دفعی هر روز با یکدیگر مخوط و به ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه‌های به دست آمده میزان ۱۰۰ میکرولیتر اسید آلوپیورونیک (۱۰

1 . Effective rumen degradable protein

2 . Fermentable metabolizable energy

Archive of SID

www.SID.ir

میلی‌مول در لیتر) به عنوان استاندارد داخلی اضافه شد. این نمونه‌ها تا زمان جداسازی مشتقات بازهای پورینی ادراری در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. برای جداسازی و تعیین غلظت مشتقات بازهای پورینی ادراری با استفاده از دستگاهHPLC روش‌بالسنر و همکاران (۱۹۹۲) که توسط دانش مسگران و پارکر (۱۹۹۸) تغییر داده شده بود مورد استفاده قرار گفت و با ایجاد تغییراتی این روش بهینه گردید. بازهای پورینی استاندارد عبارت بودند از آلانتوئین، اسید اوریک، گزانتین، هیپوگزانتین و آلوپیورنال (به عنوان استاندارد داخلی) که از شرکت زیگما (Sigma Chemical Company P.O. Box 14508 St. Louis, Mo USA 63178-9916) خریداری شدند. بحث و تفسیر عوامل مؤثر در بهینه‌سازی این روش در قسمت بحث و نتایج مورد توجه قرار خواهد گرفت و لذا در این بخش تنها توضیح روش استفاده شده بیان می‌گردد. دستگاه HPLC مورد استفاده از نوع LC-4A (شیماتزو – ژاپن) بود. ستون تجزیه‌ای مورد استفاده عبارت بود از ۲ ستون با ذرات غیر قطبیاکتادسیل سیلان (ODS) از نوع کروماتوگرافی فاز معکوس به ابعاد ۴/۶×۲۵۰ میلی‌متر که به طور سری به یکدیگر متصل شده بودند. فاز متحرک (بافرها) شامل دو سیستم بافری A و B بود، که بافر A شامل ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار آمونیوم دی هیدروژن فسفات بود که با ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر شده مخلوط گردید. بافر B شامل ۸۰۰ میلی‌لیتر از بافر A به علاوه ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول استونیتریل با درجه خلوص کروماتوگرافی بود. PH بافرها با استفاده از محلول رقیق اسید فسفریک در دامنه ۵/۶-۵/۸ تنظیم شد. بازپورینی آلوپیورینال به عنوان استاندارد داخلی استفاده شد. میزان ۲۰ میکرولیتر از نمونه توسط سیستم تزریق اتوماتیک (مدل Sil-2A، شیماتزو – ژاپن) به ستون تزریق گردید و برنامه زمانی تغییر خطی سیستم بافرها عبارت بود از: صفر درصد بافر A در زمان صفر، ۱۰۰٪ بافر B در ۳۰ دقیقه بعد از تزریق، صفر درصد بافر B در زمان ۴۰ دقیقه. سرعت حرکت فاز متحرک ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه بود. شناساگر مورد استفاده اسپکتروفتومتر ناحیه ماوراء بنفش (مدل SPD-2AS شیماتزو – ژاپن) بود و شناسایی در طول موج ماکزیمم ۲۱۰ نانومتر انجام شد. میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک با استفاده از مشقات بازهای پورینی و بر مبنای معادله بیان شده توسط دانش مسگران و پارکر(۱۹۹۸) تعیین گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این آزمایش با نرم‌افزار SAS (۱۲) در قالب طرح مربع لاتین صورت گرفت. از روش دانکن جهت مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

قبل از شروع آزمایش با حیوان زنده، به منظور دستیابی به روش جدید و بهینه جداسازی مشتقات بازهای پورینی ادراری با دستگاه HPLC، موارد مربوط به طول ستون تجزیه‌ای، ترکیب بافر،سرعت‌ومیزان‌جریان بافرها و pH آنها مورد توجه قرار گرفت.

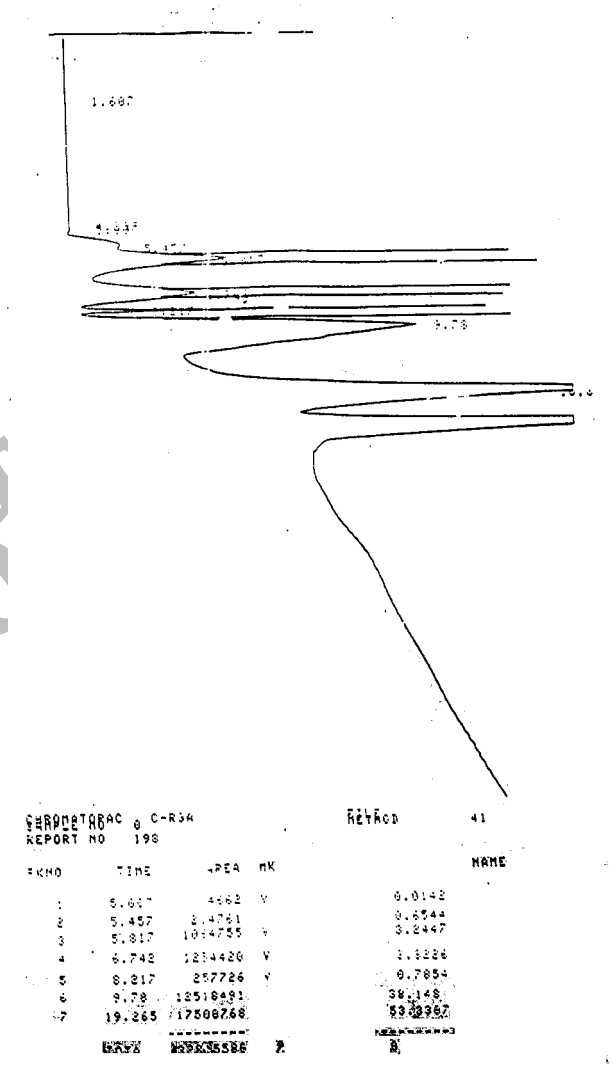
به منظور بررسی ترکیب بافرها از مقادیر مختلف استونیتریل استفاده گردید. نتایج حاصل نشان داد که بهترین جداسازی زمانی به دست خواهد آمد که از ۲۰۰ میلی‌لیتر استونیتریل در بافر B استفاده گردد. در ابتدا با عنایت به توصیه دانش مسگران و پارکر (۴) از ۲ ستون تجزیه‌ای به طول‌های ۲۵ و ۱۵ سانتی‌متر که به طور سری به یکدیگر متصل گردیده بودند، استفاده شد. با عنایت به کاهش به میزان جریان بافرها از ۱ میلی‌لیتر با ۰/۸ میلی‌لیتر و به دست آوردن فشار مطلوب در سیستم امکان بهترین جداسازی میسر گردید (شکل ۱). لذا از این سیستم به عنوان مبنا برای جداسازی مشتقات بازهای پورینی ادراری استفاده گردید. جداسازی مشتقات بازهای پورینی ادراری به طور رضایت بخشی به صورت پیکهای واضح روی خط پایه پایدار انجام شد. زمان نگهداری پیکهای به دست آمده عبارت بود از آلانتوئین: ۵/۴۷ دقیقه، اسید اوریک: ۶/۷۴ دقیقه، گزانتین: ۸/۲۱ دقیقه، هیپوگزانتین: ۹/۷۸ دقیقه و آلوپیورنیال ۱۹/۲۶ دقیقه (شکل ۱).

میزان pH و غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در قبل از تغذیه صبحگاهی و ساعتهای بعد از آن در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه آماری داده‌های مربوط به pH مایع شکمبه نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بین خوراک‌های آزمایشی در قبل از غذای صبحگاهی و بعد از آن وجود ندارد. اما میزان pH مایع شکمبه در ساعتهای ۱، ۲ و ۳ بعد از تغذیه صبحگاهی کاهش و بعد از آن رو به افزایش داشت. هر چند که در ۶ ساعت بعد از غذای صبحگاهی pH مایع شکمبه کمتر از قبل از مصرف خوراک توسط حیوانات بود. نتایج این آزمایش

Archive of SID

www.SID.ir

نشان داد که علیرغم متوازن بودن ERDP، میزان نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌هایی که از خوراک حاوی ملاس + اوره استفاده می‌کردند در مدت یک ساعت بعد از مصرف خوراک افزایش می‌یابد (جدول ۳).



شکل ۱- کروماتوگرام استاندارد مشتقات بازهای پورینی (۱ الانتوئین ۵/۴۷ دقیقه، اسید اوریک ۶/۷۴ دقیقه، گزانتین ۸/۲۱ دقیقه، هیبوگزانتین ۹/۷۸ دقیقه و آلوپیورینال ۱۹/۲۶ دقیقه)

این نتیجه نشان می‌دهد که تنها متوازن بودن ERDP با انرژی قابل متابولیسم قابل تخمیر برای کنترل نیتروژن آمونیاکی شکمبه کافی نیست و می‌باید به عوامل دیگری مانند غلظت نیتروژن غیر پروتئینی و همچنین سرعت آزادسازی نیتروژن در شکمبه نیز توجه نمود (۵، ۸، ۱۴). در این خصوص عوامل دیگری مانند بزاق، بازجذب اوره خون از طریق دیواره شکمبه، سلولهای مرده دیواره شکمبه، ترشحات میکروبی و میکروبهای تجزیه شده در شکمبه نیز می‌توانند غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه را تحت تأثیر قرار دهند (۵). با عنایت به اینکه در این پژوهش از منابع پروتئینی گیاهی به گونه‌ای استفاده گردید که نیتروژن قابل تجربه مؤثر آنها متوازن بود، لذا همانطور که انتظار می‌رفت، خوراک مصرفی توسط حیوانات از شرایط مطلوبی برخوردار بوده و لذا نیتروژن مصرفی نتوانست نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه بره‌های تغذیه شده با تیمارهای حاوی یونجه، کنجاله سویا و کنجاله تخم پنبه را تحت تأثیر قرار دهد. عدم تغییر نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده با منابع پروتئینی گیاهی از نکات بارز این پژوهش می‌باشد زیرا که نشان داده می‌شود که مهمترین عامل مؤثر بر غلظت نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه در صورت وجود مقادیر متوازن ماده آلی قابل تخمیر در گوسفند میزان نیتروژن خوراک است که در شکمبه رها می‌گردد (۵).

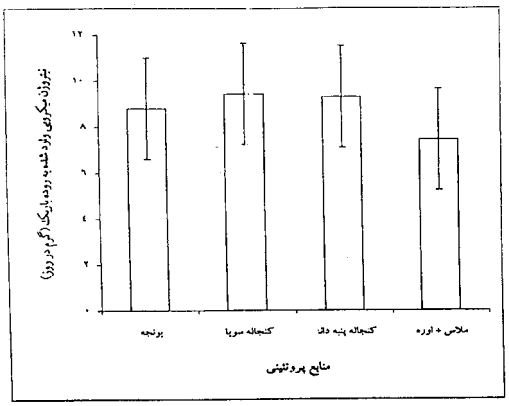
بررسی داده‌های مربوط به نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی وجود ندارد (شکل ۲). میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک در بره‌های تغذیه شده در این آزمایش بین ۶/۳ تا ۹/۸ گرم (SEM = ۲/۲) برای هر روز قرار داشت. بر اساس پیشنهادات ARC (۱)، میزان نیتروژن میکروبی تولید شده در شکمبه نشخوارکنندگان برابر میزان ERDP خواهد بود به شرطی که حاصلضرب میزان انرژی قابل تخمیر خوراک در شاخصی معادل ۱۰ برابر و یا بیشتر از ERDP باشد (۱). از آنجائیکه در این پژوهش میزان ERDP در بین تیمارهای آزمایشی یکسان بوده و از سوی دیگر انرژی قابل تخمیر در شکمبه نیز متوازن با آن بود، لذا عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین خوراک‌های آزمایشی نظرات ARC (۱) را تأیید می‌نماید. از سویی دیگر نتایج این آزمایش پیشنهاد ARC (۱) مبنی بر تأثیر ماده آلی قابل تخمیر بر تولید پروتئین میکروبی به شرط مهیا بودن مقادیر مناسب نیتروژن تجزیه‌پذیر در شکمبه را نیز تأیید می‌نماید. زیرا همانطور که ملاحظه می‌گردد علی‌رغم استفاده از منابع مختلف پروتئینی و علیرغم تفاوت در غلظت نیتروژن آمونیاکی بین خوراک حاوی اوره + ملاس با سایر خوراک‌ها، میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک به

Archive of SID

www.SID.ir

لحاظ آماری در بره‌های تغذیه با خوراک‌های آزمایشی یکسان بود (شکل ۲).

در خاتمه می‌توان چنین جمع‌بندی نمود که میزان pH مایع شکمبه و همچنین میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به روده باریک بره‌های نر بلوچی تحت تأثیر منابع پروتئینی خوراک، به شرط متوازن بودن میزان ERDP خوراک، نخواهد بود اما در صورت استفاده از اوره میزان نیتروژن آمونیاکی بلافاصله بعد از مصرف خوراک افزایش یافته و سه ساعت بعد از آن کاهش می‌یابد، به گونه‌ای که اختلاف معنی‌داری بین خوراک‌های حاوی اوره با سایر خوراک‌های حاوی منابع پروتئین گیاهی وجود ندارد.



شکل ۲- میزان نیتروژن میکروبی وارد شده به رودهٔ باریک بره‌های نر بلوچی تغذیه شده با خوراک‌های متوازن از نظر پروتئین تجزیه‌پذیر موثر در شکمبه و حاوی منابع مختلف پروتئین

جدول ۲- مقدار pH مایع شکمبه در بره‌های تغذیه شده باخوراک‌های متوازن از نظر پروتئین قابل تجزیه مؤثردر شکمبه و حاوی منابع مختلف پروتئینی[۱]

زمان	تیمار				SE	P-Value
	یونجه	کنجاله سویا	کنجاله تخم پنبه	ملاس + اوره		
۰	۶/۸۰	۶/۶۹	۶/۱۷	۶/۴۸	۰/۱۷	۰/۱۳
۱	۶/۱۹	۶/۱۳	۵/۸۵	۶/۳۳	۰/۰۹	۰/۱۰
۲	۶/۰۹	۵/۸۵	۵/۶۵	۶/۰۷	۰/۰۹	۰/۹
۳	۶/۱۲	۵/۸۴	۵/۶۸	۵/۹۴	۰/۱۲	۰/۲۰
۴	۶/۲۱	۵/۸۹	۵/۷۲	۵/۹۲	۰/۱۲	۰/۱۳
۶	۶/۴۵	۶/۱۲	۵/۸۹	۶/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۱

۱- هر عدد میانگین چهار مشاهده است

جدول ۳- مقدار نیتروژن آمونیاکی مایع شکمبه (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) در بره‌های تغذیه شده با خوراک‌های متوازن از نظر پروتئین قابل تجزیه موثر در شکمبه و حاوی منابع مختلف پروتئینی[۱-۲]

زمان	تیمار				SE	P-Value
	یونجه	کنجاله سویا	کنجاله تخم پنبه	ملاس + اوره		
۰	۱۷/۴۸	۱۸/۰۴	۱۴/۹۱	۱۲/۰۶	۳/۰۶	۰/۶۵
۱	۲۰/۷۱	۲۱/۳۸	۱۷/۵۸	۴۰/۳۹	۲/۵۷	۰/۰۰۸
۲	۱۸/۱۳	۱۹/۹۸	۱۷/۹۰	۳۳/۰۶	۲/۷۰	۰/۰۴
۳	۱۶/۶۵	۱۶/۲۲	۱۷/۵۲	۲۹/۸۹	۲/۵۷	۰/۲۹
۴	۱۳/۷۲	۱۵/۹۳	۱۵/۷۰	۲۲/۳۶	۲/۵۷	۰/۲۹
۶	۱۲/۶۸	۱۴/۹۳	۱۲/۱۶	۱۱/۹۸	۲/۲۹	۰/۷۹

۱- هر عدد میانگین چهار مشاهده است

۲- در هر سطر، اعداد باحروف مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند ($P<0/05$)

Archive of SID
www.SID.ir

REFERENCES

1. Agricultural and Food Research Council (AFRC). 1992. Technical committee on response to nutrients, report No. 9 Nutritive requirements of ruminants animal: Protein Nutrition Abstracts and Reviews (Series B), 62. (12), 787-835, CAB international Walling ford, Oxon.
2. Balcells, J., J. A. Guada, J. M. Peiro, & D. S. Parker. 1992. Simultaneous determination of allantoin and oxypurines in biological fluids by high performance liquid chromatography. Journal of Chromatography. 575: 153-157.
3. Chen, X. B., E. R., Orskov, & F. D. Deb. Hovell. 1990. Excertion of purine derivatives by ruminants: endogenous excretion, differences between cattle and sheep. British Journal of Nutrition. 63: 121-129.
4. Mesgaran, M. D., & D. S. Parker. 1998. The effect of dietary Protein and energy sources on microbial nitrogen entering duodenum and urinary excretion of purine derivatives the 8th world conference on animal production. June 28 July 4- Korea.
5. Obara, Y., D. W. Dellow, & J. V. Nolan. 1991. The influence of energy –rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants (Tsuda. T., Sasaki, Y., Kawashia, R., Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants). Academic Press, Inc., 515-539.
6. Orskov, E. R. 1992. Protein nutrition in ruminants. Academic Press Limited, London, ISBN 0-12-528481-0.
7. Puchala, R., & G. W. Kulasek. 1992. Estimation of microbial protein flow from the rumen of sheep using microbial nucleic acid and urinary excertion of purine derivative. Canadian Journal of Animals Science. 72: 821-830.
8. Russell, J. B., R. Onodera, & T. Hino. 1991. Ruminal protein fermentation: New Perspectivs on previous contradictions (Tsuda, T., Sasaki, Y., Kawashima, R., Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants). Academic Press, Inc. 681-697.
9. Rys, R., A. Antoniewicz, & J. Maciejewicz. 1975. Allantonin in urine as an index of microbial protein in the rumen (Tracer studies on non – protein nitrogen for ruminants). IAEA, Vienna, Austria. 95-98.
10. Seal, C. J., D. S. Parker, J. Balcells, & J. L. Mole. 1993. Nitrogen digestion in forage – fed sheep with and without intraruminal propionate infusion. Journal of Agricultural Science. 120: 107-114.
11. Seal, C. J., D. S. Parker, & P. J. Avery. 1992. The effect of forage and forage – concentrate diets on rumen fermentation and metabolism of nutrients by the measenteric – and portal – drained viscera in growing steers. British Journal of Nutrition. 67: 355-370.
12. Statistical Analysis System Institute. 1990. SAS procedure guide. Version 6.third edition. Statistical Analysis |System Institive. Cary, No
13. Wallace, R. J., & M. L. Brammall. 1985. The role of different species of bacteria in the hydrolysis of protein in the rumen. Journal of General Microbiology. 131: 821-832.
14. Witt, M. W., L. A. Sinclair. R. G. Wilkinson, & P. J. Buttery. 1999. The effect of synchronizning the rate of dietary energy and nitrogen supply to the rumen on the metabolism and growth of rom lambs given food at a restricted level. Animal Science. 69: 627-637.
15. Zinn R. A., & F. N. Owens. 1986. A rapid procedure for purine mesurement and its use for estimating net ruminal protein synthesis. Canadian Journal of Animal Science. 66: 157-166.

Archive of SID

www.SID.ir

Iranian. J. Agric. Sci. Vol. 34, No. 4, 2003

Microbiol Nitrogen Entering Baloochi Lamb Duodenums Using a Developed HPLC Method for Isolating Urinary Purine Derivatives

M. DANESH MESGARAN[1], F. TABATABAEE[2], M. M. SHARIATEE[3] AND A. G. GOLIAN[4]

1, 2, 3, 4, Associate Professor, Staff Member, Former Graduate Student and Professor, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Accepted Oct. 30, 2002

SUMMARY

The objective of the present study was to determine the microbial nitrogen entering Baloochi lamb duodenums when fed with diets differing in protein sources (alfalfa, cottonseed meal, soybean meal or molasses + urea) with similar amounts of ERDP using a developed HPLC isolation method of urinary purine derivatives. In addition, ruminal pH and N- NH_3 (mgL^{-1}) were determined at before, 1, 2, 3, 4 and 6 hours after feeding. Data related to the microbial protein entering the duodenum (ranged from 6.3 to 9.8 g/ lamb/ d), ruminal pH and N – NH_3 in lambs receiving the experimental diets indicated that the effect of protein sources, when diets provided similar amounts of ERDP, is not significant (except for N – NH_3 at 1 and 2 hours after feeding (40.39 and 33.06 mg/dl, respectively) where the N – NH_3 concentration in the rumen of lambs fed with diet containing urea + molasses was significantly higher ($P<0.05$) than that in the others).

Key words: Microbial nitrogen, Purine, HPLC.

Archive of SID

www.SID.ir