



## اثرات سطوح مختلف بنتونیت فرآوری شده و نشده (مونتموریلونیت<sup>۱</sup>) و زئولیت (کلینوپتیلولیت<sup>۲</sup>) در سطوح مختلف پروتئین قابل تجزیه (در شکمبه) بر غلظت نیتروژن آمونیاکی، قابلیت حل و قابلیت هضم پروتئین در شرایط درون شیشه‌ای

• علیرضا آقاشاهی، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور  
• علی نیکخواه، استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران  
• سیداحمد میرهادی، مجتبی زاهدی فر و هرمز منصوری، اعضاء هیأت  
علمی مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور

تاریخ دریافت: شهریور ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: فروردین ماه ۱۳۸۴

Email: araghashahi@yahoo.com

### چکیده

این پژوهش به منظور مطالعه اثرات بنتونیت فرآوری شده و نشده و کلینوپتیلولیت بر میزان نیتروژن آمونیاکی درون شیشه‌ای پروتئین قابل هضم در روده و پروتئین قابل حل در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد. در مرحله اول سه سطح (۲۰، ۴ یا درصد) از هر یک از افزودنی‌های معدنی ذکر شده به بیست و یک جیره که از نظر انرژی و پروتئین خام مشابه، ولی از نظر پروتئین قابل تجزیه در شکمبه، متفاوت بود، اضافه و در ساعت‌های مختلف پس از انکوباسیون غلظت نیتروژن آمونیاکی اندازه گیری شد. بر اساس نتایج آزمایشات، استفاده از ۲ درصد بنتونیت فرآوری شده و نشده یا کلینوپتیلولیت، تاثیری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط درون شیشه‌ای نداشت ( $p > 0.05$ ). زمانی که نسبت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه پائین بود، بنتونیت فرآوری نشده تاثیر بیشتری نسبت به کلینوپتیلولیت داشت ولی در سطوح بالاتر پروتئین قابل تجزیه، تفاوتی بین این دو افزودنی معدنی مشاهده نشد. در مجموع استفاده از ۴ درصد از این مواد معدنی، به طور موثری غلظت نیتروژن آمونیاکی را خصوصاً در ۴ ساعت پس از انکوباسیون (در مقایسه با شاهد) کاهش دادند ( $p < 0.05$ ). این اثر با بالاتر رفتن میزان تجزیه پذیری پروتئین بیشتر شد. اضافه کردن بنتونیت سدیم (فرآوری شده و نشده) و کلینوپتیلولیت تاثیری بر قابلیت حل پروتئین کنجاله سویا نداشت ( $p < 0.05$ ) ولی اضافه کردن بنتونیت فرآوری نشده، قابلیت حل پروتئین یونجه را افزایش داد ( $p < 0.05$ ). اضافه کردن بنتونیت فرآوری نشده و کلینوپتیلولیت باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین جیره در روده شدند ( $p < 0.05$ ).

کلمات کلیدی: نیتروژن آمونیاکی، کلینوپتیلولیت، بنتونیت، قابلیت هضم، قابلیت حل، پروتئین.

Pajouhesh & Sazandegi No:70 pp: 80-90

Effects of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite at different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (*In-vitro*).

By: A. Aghashahi, Member of Scientific Board of Animal Science Research Institute, Karaj, Iran., A. Nikkhah, Professor of Department of Animal Science, Faculty of Agriculture University of Tehran, Iran.

This experiment was carried out in two phase. In first phase the levels of 0, 2 or 4% of processed bentonite (PB),

unprocessed bentonite(B), or clinoptilolite(CL) were added as mineral additives to 21 isonitrogenous and isocaloric rations ,but different in rumen degradable protein . rations were incubated *in-vitro*. Ammonia nitrogen were measured after incubation(AI).On the basis of results of this experiment, ammonia nitrogen (AN) was not decreased AI by inclusion of 2 percent of PB,B, or CL to rations ( $p>0.05$ ), But it was decreased effectively by inclusion of 4 percent of these mineral additives to rations ( $p<0.05$ ).Soluble protein of soybean meal did not changed ( $p>0.05$ ), but soluble protein of alfalfa was increased ( $p<0.05$ ) by inclusion of B. Intestinal digestible protein of experimental rations were decreased by inclusion of 4 percent B, or CL ( $p<0.05$ ).

**Key words:** Bentonite,Clinoptilolite, Ammonia nitrogen, Soluble protein, Digestible protein.

## مقدمه

کمبود مواد خوراکی یکی از مسائل مهم کشورهای در حال توسعه (از جمله ایران) است و اعتقاد بر این است که اگر این کشورها بتوانند میزان تولیدات کشاورزی خود را با استفاده بهینه از منابع به سطح کشورهای پیشرفته برسانند کمبود مواد غذایی در این کشورها وجود نخواهد داشت (۳). عدم استفاده صحیح از مواد خوراکی و مصرف جیره‌های غذایی نامتوازن از جمله دلایل پایین بودن میزان و بازده تولیدات دامی در ایران است. از جمله راه‌های بهبود بازده غذایی دام‌های کشور (به خصوص گوساله‌های پرواری)، و اقتصادی نمودن پرواربندی، استفاده بیشتر از مواد متراکم (با توجه به بالا بودن نسبی قیمت علوفه در کشور) در جیره دام‌ها می‌باشد. انجام این مهم در صورتی امکان پذیر است که با استفاده از مواد قابل دسترس عوارض سوء ناشی از مصرف زیاد مواد متراکم در جیره گوساله‌های پرواری را نیز به حداقل رسانده، شرایط تخمیر در شکمبه و بازده خوراک نیز بهبود داده شود. در این بین برخی از مواد افزودنی معدنی مانند بنتونیت و زئولیت با توجه به خصوصیات بافری و تبادل کاتیونی می‌توانند نقش ویژه‌ای داشته باشند (۶، ۱۵، ۲۳).

یکی از ترکیب‌های نیتروژن‌دار مورد مصرف میکروبیوم موجود در شکمبه (به منظور سنتز پروتئین)، نیتروژن آمونیاکی می‌باشد. نیتروژن آمونیاکی نتیجه تجزیه پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اوره و ... در شکمبه می‌باشد. به‌طور کلی مقداری از این منبع نیتروژنی به مصرف باکتری‌ها می‌رسد و مازاد آن از طریق دیواره شکمبه وارد جریان خون شده و در کبد دوباره به اوره تبدیل می‌شود. وقتی مقدار آمونیاک رسیده به کبد بیش از ظرفیت کبد در تبدیل آن به اوره باشد سبب تجمع آمونیاک در کبد و نهایتاً باعث مسمومیت در دام می‌شود. به منظور کاهش سمیت میزان بالای نیتروژن آمونیاکی در مایع شکمبه، استفاده از زئولیت و بنتونیت توصیه شده است. اصول کار بر این فرض استوار است که یون‌های آمونیوم می‌توانند سریعاً در اثر تبادل یونی وارد ساختمان این مواد شوند و سپس در اثر ورود بزاق در مراحل بعدی به تدریج  $NH_4^+$  آزاد شده و فرصت لازم برای استفاده میکروبیوم از آن را فراهم کنند و به این ترتیب دام‌ها را در مقابل مسمومیت آمونیاکی محافظت می‌کنند. هر چند ظرفیت این مواد در برداشت نیتروژن نامحدود نمی‌باشد (۲۵). زئولیت‌های طبیعی دارای ساختمان آلومینوسیلیکاتی سه بعدی می‌باشند. توانایی این مواد جذب و دفع آب و تبادل یونی، بدون تغییر در ساختمان آنها می‌باشد. زئولیت طبیعی به دلیل داشتن کاتیون‌های قابل تعویض با یون هیدروژن به عنوان بافر عمل می‌کند و در صورت استفاده در جیره دام سبب بهبود فعالیت

باکتری‌های هضم کننده سلولز می‌شود (۲۳). افزودن کلینوپتیلولیت همیشه با کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه همراه نخواهد بود. به عنوان مثال در صورتی که کاتیون‌های  $K^+$  در غلظت‌های بالا در مایع شکمبه موجود باشند، قابلیت جذب یون آمونیوم توسط کلینوپتیلولیت را کاهش می‌دهند. بر عکس این موضوع، وجود ترکیبات آلی مثل پروتئین‌ها، جذب یون آمونیوم توسط زئولیت را افزایش می‌دهند (۶).

بنتونیت با فرمول عمومی  $(OH)_n(NH_4)_x(Si_4O_{10})(Na,Ca)(Al,Mg)$  دسته رس‌ها قرار دارد و کانی غالب آن مونتموریلونیت بوده و دارای ظرفیت تبادل کاتیونی بالایی است (۲). بنتونیت به دلیل ساختمان آلومینوسیلیکاتی خاص خود دارای خاصیت کلونیدی می‌باشد. وجود مونتموریلونیت در بنتونیت خاصیت سوسپانسیون کنندگی مناسبی به آن می‌دهد و در نتیجه می‌تواند مواد آلی، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه را در ساختمان داخلی یا خارجی خود حفظ کند. همچنین به دلیل وجود یون‌های آلی قابل تعویض در ساختمان آلومینوسیلیکاتی بنتونیت، تعویض یونی، ساختمان آن را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد (۲۵، ۳۳). بر اساس تحقیقات انجام شده بنتونیت با جذب اسیدهای آمینه آزاد آنها را از معرض تخمیر شکمبه‌ای دور نموده و به این طریق سبب می‌شود که بهتر در دسترس دام قرار گیرند. علاوه بر این بنتونیت قادر به محافظت پروتئین کنجاله سویا از تاثیر آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین است (۱۶). جایگزینی پروتئین کنجاله سویا همراه با بنتونیت سدیم، به جای آرد ماهی در جیره نشان می‌دهد که اضافه کردن بنتونیت سبب بهبود معنی دار افزایش وزن روزانه و خوراک مصرفی شد (۳۳). همچنین اضافه کردن بنتونیت به میزان ۲ درصد به کنجاله خرما می‌روغنی سبب کاهش جمعیت پروتوزوایی و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه شد (۴). همچنین در آزمایش دیگری با اضافه کردن ۳ یا ۶ درصد بنتونیت به کنسانتره، فعالیت تخمیری شکمبه بهبود یافت (۲۸).

در ایران در سال‌های اخیر تحقیقاتی در زمینه استفاده از زئولیت در تغذیه طیور و گاوهای شیرده، گوشتی و گوسفند انجام شده است (۲۳). بر اساس نتایج این پژوهش‌ها استفاده از زئولیت در جیره دام‌ها نتایج همسانی نداشته است و هر چند دلایل این امر به خوبی مشخص نیست ولی به نظر می‌رسد که نوع و میزان زئولیت به کار برده شده و همین‌طور اجزاء خوراک عامل مهمی در میزان اثر بخشی یا عدم تاثیر زئولیت باشد (۲۶) از این رو ضروری است به ابعاد موضوع بیشتر پرداخته شود. از سوی دیگر کشورما دارای مقادیر متنابهی بنتونیت نیز می‌باشد. به گونه‌ای که بر اساس آمار موجود ظرفیت معادن بنتونیت کشور بالغ بر ۱۱۶۶۱۰۰۰ تن برآورد می‌گردد (۱). هر چند در خصوص

### اندازه‌گیری قابلیت هضم پروتئین در روده

با توجه به نتایج مرحله اول و پس از تعیین ترکیبات شیمیایی چهار جیره غذایی که از لحاظ غلظت انرژی و پروتئین خام یکسان ولی از نظر ماده معدنی افزودنی، متفاوت بودند با استفاده از جداول استاندارد احتیاجات غذایی NRC (۲۴) متوازن و به صورت کاملاً مخلوط تهیه گردید (جدول ۴). جهت تعیین قابلیت هضم پروتئین جیره‌های آزمایشی در روده طبق روش توصیه شده Stern و Calsmiglia (۹) عمل شد.

### اندازه‌گیری قابلیت حل پروتئین

به منظور بررسی بهتر اثر مواد معدنی افزودنی بر قابلیت حل پروتئین از مواد خشبی جیره، یونجه و از مواد متراکم کنجاله سویا انتخاب شد. جهت اندازه‌گیری قابلیت حل (با در نظر گرفتن ۴ تکرار برای هر جیره) از روش استاندارد Licitra و همکاران (۱۷) استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به این مرحله از روش آزمون طرح کاملاً تصادفی استفاده شد:

$$e_{ij} + A_{ij} + \mu = Y_{ij}$$

اثر  $i$  امین عامل (بنتونیت طبیعی، بنتونیت فراوری شده، زئولیت و شاهد) در  $Z$  امین سطح (۰،۲ و ۴ درصد)  
 $Y_{ij}$ : مربوط به هر یک از مشاهدات  $\mu$ : میانگین فراسنجه مورد بررسی  
 مقایسه میانگین‌ها نیز به روش دانکن انجام گرفت.

### نتایج

#### غلظت نیتروژن آمونیاکی در سطوح مختلف پروتئین قابل تجزیه

غلظت نیتروژن آمونیاکی در ساعات مختلف پس از انکوباسیون در جداول ۵، ۶ و ۷ گزارش شده است.

#### الف) نسبت اول: ۶۰ درصد پروتئین قابل تجزیه در کل پروتئین خام جیره

میانگین غلظت نیتروژن آمونیاکی در جدول ۵ گزارش شده است. اطلاعات ارائه شده در این جدول از چند جنبه قابل توجه است. به طوری که ملاحظه می‌شود با گذشت زمان غلظت نیتروژن آمونیاکی در همه جیره‌ها بالاتر رفت ولی با اضافه نمودن ۲ درصد از هر ماده معدنی (بنتونیت طبیعی، فراوری شده و کلینوپتیلولیت) در ساعات مختلف پس از انکوباسیون، افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با جیره شاهد کمتر بود ولی تا ۴ ساعت، فقط اختلاف بین جیره ۳ با شاهد معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

با افزایش میزان ماده معدنی از ۲ به ۴ درصد، غلظت نیتروژن آمونیاکی در ساعات‌های اولیه پس از انکوباسیون (تا ۴ ساعت)، به میزان بیشتری در جیره‌های ۵، ۶ و ۷ در مقایسه با جیره ۱ کاهش یافت، به گونه‌ای که در این زمان‌ها، کمترین میزان نیتروژن آمونیاکی مربوط به جیره‌هایی است که دارای ۴ درصد ماده معدنی می‌باشند و این اختلاف با جیره شاهد تا ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). به عبارت دیگر استفاده از ۴ درصد ماده معدنی توانسته غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط خصوصاً در ساعت اولیه تخمیر را کاهش دهد. جنبه دیگر، تاثیر نوع ماده معدنی در نسبت‌های مختلف در ساعات

استفاده از بنتونیت در صنایع مختلف از جمله به عنوان خاک رنگر و امولسیون کننده روغن‌ها تحقیقاتی صورت پذیرفته است ولی در خصوص استفاده از آن تغذیه نشخوارکنندگان تحقیقات منتشر شده‌ای در کشور در دسترس نمی‌باشد با توجه به موارد اخیر تحقیق حاضر برای تبیین اهداف ذیل صورت پذیرفت:

۱- بررسی نسبت‌های مختلف بنتونیت و کلینوپتیلولیت (که یکی از انواع زئولیت مورد استفاده در تغذیه دام می‌باشد) بر غلظت نیتروژن آمونیاکی، قابلیت هضم پروتئین در روده و قابلیت حل پروتئین در شرایط درون شیشه‌ای (*in-vitro*).

۲- بررسی امکان کاربرد منابع بنتونیت ایران در تغذیه دام و تعیین اثر فرآوری حرارتی بر خواص مختلف بنتونیت در شرایط درون شیشه‌ای و دام

### مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو مرحله انجام شد که در این مقاله نتایج مرحله اول و قسمتی از نتایج مرحله دوم گزارش می‌شود. ابتدا منابع بنتونیت مورد مطالعه قرار گرفت و نمونه‌های جمع‌آوری شده، جهت انجام آزمایش‌های کانی شناسی با استفاده از روش پرتو دهی با اشعه ایکس (XRD) و تعیین عناصر معدنی به آزمایشگاه سازمان زمین‌شناسی کشور ارسال شد. پس از جمع‌آوری اطلاعات، در خصوص بالغ بر ۴۰ معدن بنتونیت در ایران، جهت انجام آزمایش در مراحل بعدی، چند اصل در خصوص بنتونیت مورد توجه قرار گرفت. اول اینکه ذخیره معدن مدنظر به مقدار قابل توجهی وجود داشته باشد و به گونه‌ای باشد که حداقل طی دو دهه آینده با استخراج و بهره‌برداری با روند کنونی ذخیره آن تمام نشود. علاوه بر این کانی‌هایی مثل کوارتز که برای دام مضر هستند به مقدار کمی در آن وجود داشته باشند و به منظور منطبق بودن بر تعریف بنتونیت، کانی غالب آن مونتموریلونیت باشد. همچنین از لحاظ ساختار زمین‌شناسی و خصوصیات، بیانگر بنتونیت ایران باشد.

مشخصات کانی‌شناسی بنتونیت وزئولیت مورد استفاده در این آزمایش به قرار ذیل بود:

۱- کانی‌های موجود در بنتونیت: مونتموریلونیت (کانی اصلی) کلسیت کریستوبالیت کوارتز.

۲- کانی‌های موجود در زئولیت: کلینوپتیلولیت (کانی اصلی) فلدسپار کریستوبالیت کلسیت.

#### اندازه‌گیری میزان جذب نیتروژن آمونیاکی

به منظور بررسی اثرات بنتونیت فراوری شده و نشده و همین‌طور کلینوپتیلولیت بر جذب نیتروژن آمونیاکی (در شرایط آزمایشگاهی) پس از ارسال نمونه‌های مواد خوراکی به آزمایشگاه ترکیبات شیمیایی آنها تعیین گردید. سپس سه نسبت (صفر، ۲ و ۴ درصد) از هر ماده معدنی (بنتونیت فراوری شده، بنتونیت طبیعی، کلینوپتیلولیت) در ترکیب ۲۱ جیره (جدول ۱ و ۲) با درصد پروتئین خام مساوی و تجزیه پذیری متفاوت (۶۰، ۷۰، ۸۰ درصد کل پروتئین خام) مورد استفاده قرار گرفت و پس از انکوباسیون به روش Menke و همکاران (۱۹) در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون، نیتروژن آمونیاکی به روش Preston (۲۷) اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- نسبت مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی در جیره‌های آزمایشی (سطح اول پروتئین قابل تجزیه: ۶۰ درصد کل پروتئین خام)

شماره جیره ترکیب شیمیایی	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	شماره جیره ترکیب شیمیایی	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱
ارزی قابل متابولیسم**	۲/۵۵	۲/۵۵	۲/۵۵	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۶۲	جو	۴۷/۰	۴۷/۰	۴۷/۰	۴۶/۵	۴۶/۵	۴۶/۵	۴۴/۰
پروتئین خام*	۱۷/۸۱	۱۷/۸۱	۱۷/۸۱	۱۷/۶۱	۱۷/۶۱	۱۷/۶۱	۱۷/۸۱	ذرت	۱۷/۰	۱۷/۰	۱۷/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۳/۵
پروتئین قابل تجزیه (۱)*	۱۰/۶	۱۰/۶	۱۰/۶	۱۰/۵۰	۱۰/۵۰	۱۰/۵۰	۱۰/۶۰	کنجاله سویا	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۳/۰	۴/۰
پروتئین غیر قابل تجزیه (۲)*	۷/۲۱	۷/۲۱	۷/۲۱	۷/۱۱	۷/۱۱	۷/۱۱	۷/۲۱	گلوتن ذرت	۸/۵	۸/۵	۸/۵	۸/۰	۸/۰	۸/۰	۸/۰
نسبت ۱ به ۲	۱/۴۸	۱/۴۸	۱/۴۷	۱/۴۸	۱/۴۸	۱/۴۸	۱/۴۷	اوره	—	—	—	—	—	—	—
الیاف خام*	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۱	۱۰/۰۱	۱۰/۰۱	۱۰/۰۲	بتونیت فراوری شده	—	—	۴/۰	—	—	۲/۰	—
دیواره سلولی (۳)*	۲۲/۱۱	۲۲/۱۱	۲۲/۱۱	۲۲/۳۳	۲۲/۳۳	۲۲/۳۳	۲۲/۵۶	بتونیت طبیعی	—	۴/۰	—	—	۲/۰	—	—
دیواره سلولی بدون همی سلولز*	۱۱/۷۰	۱۱/۷۰	۱۱/۷۰	۱۱/۷۶	۱۱/۷۶	۱۱/۷۶	۱۲/۰۱	زنولیت	۴/۰	—	—	۲/۰	—	—	—
چربی خام*	۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۷۵	۲/۸۶	۲/۸۶	۲/۸۶	۳/۱۵	یونجه	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰
								جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

\*\* مگا کالری بر کیلوگرم \* درصد در ماده خشک

جدول ۲- نسبت مواد خوراکی در جیره‌های آزمایشی (سطح دوم پروتئین قابل تجزیه: ۷۰ درصد کل پروتئین خام)

شماره جیره ترکیب شیمیایی	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸	شماره جیره ترکیب شیمیایی	۱۴	۱۳	۱۲	۱۱	۱۰	۹	۸
ارزی قابل متابولیسم**	۲/۵۱	۲/۵۱	۲/۵۱	۲/۵۲	۲/۵۲	۲/۵۲	۲/۵۴	جو	۴۷/۰	۴۷/۰	۴۷/۰	۴۸/۰	۴۸/۰	۴۸/۰	۴۱/۵
پروتئین خام*	۱۷/۸۱	۱۷/۸۱	۱۷/۸۱	۱۷/۹۱	۱۷/۹۱	۱۷/۹۱	۱۷/۵۱	ذرت	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۱/۰	۲۱/۰	۲۱/۰	۲۸
پروتئین قابل تجزیه (۱)*	۱۲/۵۱	۱۲/۵۱	۱۲/۵۱	۱۲/۷۰	۱۲/۷۰	۱۲/۷۰	۱۲/۴۱	کنجاله سویا	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۴/۰	۳/۰	۶/۰
پروتئین غیر قابل تجزیه (۲)*	۵/۳۰	۵/۳۰	۵/۳۰	۵/۲۱	۵/۲۱	۵/۲۱	۵/۱۰	گلوتن ذرت	۳/۵	۳/۵	۳/۵	۳/۵	۳/۵	۳/۵	۳/۰
نسبت ۱ به ۲	۲/۳۵	۲/۳۵	۲/۳۵	۲/۴۳	۲/۴۳	۲/۴۳	۲/۴۰	اوره	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵	۱/۵
الیاف خام*	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۱	۱۰/۰۱	۱۰/۰۲	۱۰/۰۰	بتونیت فراوری شده	—	—	—	—	—	—	—
دیواره سلولی (۳)*	۲۲/۰۰	۲۲/۰۰	۲۲/۰۰	۲۲/۱۱	۲۲/۱۱	۲۲/۱۱	۲۲/۰۲	بتونیت طبیعی	—	۴/۰	—	—	۲/۰	—	—
دیواره سلولی بدون همی سلولز*	۱۱/۸۰	۱۱/۸۰	۱۱/۸۰	۱۱/۷۵	۱۱/۷۵	۱۱/۷۵	۱۱/۹۱	زنولیت	۴/۰	—	—	۲/۰	—	—	—
چربی خام*	۳/۰۳	۳/۰۳	۳/۰۳	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۰۰	۳/۴۵	یونجه	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰	۲۰/۰
								جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

\*\* مگا کالری بر کیلوگرم \* درصد در ماده خشک

جدول ۳- نسبت مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی در جیره‌های آزمایشی (سطح سوم پروتئین قابل تجزیه: ۸۰ درصد کل پروتئین خام)

شماره جیره	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱	شماره جیره	۱۵	۱۶	۱۷	۱۸	۱۹	۲۰	۲۱
ترکیب شیمیایی								ترکیب*							
انرژی قابل متابولیسم**	۲/۶۰	۲/۵۴	۲/۵۴	۲/۵۴	۲/۵۳	۲/۵۳	۲/۵۳	جو	۵۸	۵۹	۵۹	۵۹	۵۹	۵۹	۵۹
پروتئین خام*	۱۷/۵۵	۱۷/۷۵	۱۷/۷۵	۱۷/۷۵	۱۷/۵۹	۱۷/۵۹	۱۷/۵۹	ذرت	۱۹/۵	۱۶	۱۶	۱۶	۱۴	۱۴	۱۴
پروتئین قابل تجزیه (۱)*	۱۴/۱۰	۱۴/۲۵	۱۴/۲۵	۱۴/۲۵	۱۴/۲۷	۱۴/۲۷	۱۴/۲۷	کنجاله سویا	—	—	—	—	—	—	—
پروتئین غیر قابل تجزیه (۲)*	۳/۴۵	۳/۵۰	۳/۵۰	۳/۵۰	۳/۳۲	۳/۳۲	۳/۳۲	گلوتن ذرت	—	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵
نسبت ۱ به ۲	۴/۱	۴/۱	۴/۱	۴/۱	۴/۲	۴/۲	۴/۲	اوره	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
الیاف خام*	۱۰/۱۷	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۰۰	۱۰/۱۰	۱۰/۱۰	۱۰/۱۰	بنتونیت فراوری شده	—	—	—	—	۴	—	—
دیواره سلولی (۳)	۲۳/۴۶	۲۲/۸۲	۲۲/۸۲	۲۲/۸۲	۲۳/۲۸	۲۳/۲۸	۲۳/۲۸	بنتونیت طبیعی	—	—	۲	—	—	۴	—
دیواره سلولی بدون همی سلولز*	۱۲/۲۰	۱۱/۷۸	۱۱/۷۸	۱۱/۷۸	۱۲/۱۲	۱۲/۱۲	۱۲/۱۲	زئولیت	—	—	—	۲	—	—	۴
چربی خام*	۲/۳۶	۲/۲۲	۲/۲۲	۲/۲۲	۲/۱۸	۲/۱۸	۲/۱۸	یونجه	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰
								جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

\*\* مگا کالری بر کیلوگرم \* درصد در ماده خشک

جدول ۴: اجزاء تشکیل دهنده جیره آزمایشی و میزان انرژی و ترکیبات شیمیایی بر حسب ماده خشک

غلظت انرژی و ترکیبات شیمیایی جیره	مقدار (درصد)	اجزای جیره
انرژی خالص نگهداری (NEm) مگا کالری بر کیلوگرم	۴۵/۵	دانه جو آسیاب شده
انرژی خالص رشد (NEg) مگا کالری بر کیلوگرم	۹/۵	تفاله خشک چغندر قند
پروتئین خام (درصد)	۹/۰	کنجاله سویا
پروتئین قابل تجزیه در شکمبه (درصد) ۱	۸/۵	کنجاله پنبه دانه
پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (درصد) ۲	۲/۵	سیوس
الیاف خام (درصد) ۳	۱۰/۰	یونجه خرد شده
دیواره سلولی (درصد) ۴		
دیواره سلولی موثر (درصد) ۵	۱۰/۰	ذرت سیلوتی
دیواره سلولی بدون همی سلولز (درصد) ۶	۰/۵	سنگ آهک آسیاب شده
چربی خام (درصد)	۰/۵	نمک
فسفر (درصد)	۴/۰	مکمل ۷
کلسیم (درصد)		

۱-RDP  
۲-UDP  
۳-CF  
۴-NDF  
۵-eNDF  
۶-ADF

به ترتیب: در جیره اول، دوم، سوم و چهارم: بنتونیت فرآوری شده\*\*، بنتونیت طبیعی، کلینوپتیلولیت مواد پلیمری غیر قابل هضم با خصوصیات فیزیکی و وزن مخصوص مشابه

\*\* بنتونیت در ۳۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت حرارت داده می شود

## ج - نسبت سوم: ۸۰ درصد

## پروتئین قابل تجزیه در کل پروتئین خام جیره

اطلاعات مربوط به غلظت نیتروژن آمونیاکی در جدول ۷ گزارش شده است. با گذشت زمان در همه جیره‌ها با استفاده از ۲ درصد ماده معدنی، تا ۶ ساعت پس از انکوباسیون غلظت نیتروژن آمونیاکی افزایش، پس از آن کاهش و سپس از ۸ تا ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون، روند افزایشی داشت. هر چند کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از ۲ درصد ماده معدنی از ۶ تا ۸ ساعت پس از انکوباسیون در مورد همه جیره‌ها مشهود بود ولی این کاهش در خصوص جیره ۱۵ (از ۲۹۵/۰۰ به ۲۸۶/۰۰) شدیدتر بود. همچنین غلظت نیتروژن آمونیاکی در همین سطح تا ۲ ساعت پس از انکوباسیون در جیره‌های ۱۶ تا ۱۸ نسبت به شاهد کمتر بود، ولی این تفاوت معنی دار نبود ( $p < 0.05$ ).

در سطح ۴ درصد، پس از ۴ ساعت انکوباسیون، روند تغییر غلظت نیتروژن آمونیاکی (نسبت به زمان قبل) در جیره ۱۹ تا ۲۱ کاهش و برعکس، در جیره ۱۵ این روند افزایشی بود. اضافه کردن ۴ درصد از هر ماده معدنی (جیره‌های ۱۹ تا ۲۱)، ۴ ساعت پس از انکوباسیون توانسته غلظت نیتروژن آمونیاکی را بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش دهد ( $p < 0.05$ ). همچنین غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره ۱۹، ۲۰ و ۲۱ تا ۶ ساعت پس از انکوباسیون کمتر از شاهد، و در ساعات بعد بیشتر از شاهد بود. در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون، غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره‌ها به گونه‌ای بود که اختلاف معنی داری بین آنها مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ).

در خصوص تاثیر نوع ماده معدنی، در سطح ۲ درصد در ۲ و ۴ ساعت پس از انکوباسیون به ترتیب بیشترین تاثیر به ترتیب مربوط به کلینوپتیلولیت و بنتونیت فرآوری شده و از ۴ تا ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون کلینوپتیلولیت بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی داشت.

در سطح ۴ درصد، در مورد جیره ۱۹، تا ۸ ساعت پس از انکوباسیون، به طور معنی داری غلظت نیتروژن آمونیاکی پایین تر از شاهد بود ( $p < 0.05$ ) و جیره‌های ۲۰ و ۲۱ از نظر این صفت در رتبه بعدی قرار داشتند. در اینجا نیز پس از ۲۴ ساعت غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره شاهد با بقیه معنی دار نبود ( $p < 0.05$ ).

## تاثیر مواد معدنی افزودنی بر کیفیت پروتئین

## قابلیت حل در شکمبه و قابلیت هضم در روده

نتایج مربوط به تاثیر هر یک از مواد معدنی افزودنی بر قابلیت حل پروتئین یونجه و کنجاله سویا و قابلیت هضم پروتئین جیره‌های آزمایشی در روده، در جدول ۸ گزارش شده است.

بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۸، اضافه کردن بنتونیت سدیم (فرآوری شده و نشده) و کلینوپتیلولیت تاثیری بر قابلیت حل پروتئین کنجاله سویا نداشت ولی بنتونیت سدیم فرآوری نشده سبب افزایش میزان پروتئین محلول یونجه شد و این اختلاف با شاهد معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). قابلیت حل پروتئین کنجاله سویا بدون مواد افزودنی معدنی ۳۶/۵۳ و در مورد یونجه ۹/۵۰ در مقایسه با افزودن بنتونیت فرآوری شده که به ترتیب ۳۶/۷۴ و ۹/۶۰، بنتونیت طبیعی ۳۷/۷۴ و ۱۰/۷، زئولیت ۳۶/۹۹ و ۹/۴۶ بود. اضافه کردن بنتونیت طبیعی و زئولیت تاثیر معنی داری بر قابلیت هضم پروتئین در روده داشت و باعث کاهش قابلیت هضم پروتئین جیره‌ها در روده شد، به گونه‌ای که کمترین قابلیت هضم مربوط به جیره ۲ (۷۸/۲۲ درصد) و بیشترین قابلیت هضم مربوط

پس از انکوباسیون است. در سطح ۲ درصد، در ۲ ساعت پس از انکوباسیون بنتونیت فرآوری شده و در ۴، ۶، ۸ و ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون بنتونیت طبیعی بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط داشتند، ولی در ساعت ۲۴، غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره‌های مختلف به مقدار زیادی به یکدیگر نزدیک شده و این اختلاف نیز (در مورد جیره‌های ۲، ۳ و ۴ با شاهد) معنی دار نبود ( $p < 0.05$ ).

در سطح ۴ درصد استفاده از ماده معدنی ۲ و ۴ ساعت پس از انکوباسیون، بنتونیت طبیعی و در ۶ و ۸ ساعت پس از انکوباسیون بنتونیت فرآوری شده و پس از ۱۲ ساعت کلینوپتیلولیت بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط داشتند. در ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره‌ها به هم نزدیک شده به گونه‌ای که اختلاف معنی داری بین جیره‌ها در این سطح ملاحظه نشد ( $p < 0.05$ ).

## ب) نسبت دوم: ۷۰ درصد پروتئین قابل تجزیه

## در کل پروتئین خام جیره

نتایج مربوط به این آزمایش در جدول ۶ گزارش شده است. در اینجا نیز چند روند کلی قابل توجه است. در سطح اول مواد معدنی (۲ درصد)، تا ۴ ساعت پس از انکوباسیون، در همه جیره‌ها غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به زمان نمونه برداری قبل افزایش یافت، ولی این افزایش در گروه شاهد (۲۳۳/۲۱ به ۲۵۲/۳۳) نسبت به جیره ۹، ۱۰ و ۱۱ بیشتر بود. از ۴ تا ۶ ساعت پس از انکوباسیون، هر چند غلظت نیتروژن آمونیاکی در محیط کاهش یافت، ولی در خصوص جیره ۸ این کاهش شدیدتر (۲۵۲/۳۳ به ۲۲۶/۳۲) و در جیره ۱۱ که حاوی کلینوپتیلولیت بود، این کاهش کمترین میزان را دارا بود (۲۴۸/۲۲ به ۲۴۵/۳۱).

موضوع قابل توجه دیگر اینکه استفاده از ۲ درصد ماده معدنی تاثیری در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی خصوصاً در ساعات اولیه انکوباسیون نداشت.

با اضافه شدن ماده معدنی از ۲ به ۴ درصد میزان کاهش در غلظت نیتروژن آمونیاکی نیز در جیره‌های آزمایشی نسبت به جیره ۸ (شاهد) بیشتر شد و این اختلاف در ۴ ساعت پس از انکوباسیون معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). به عبارت دیگر استفاده از ۴ درصد ماده معدنی (به طور عموم) توانست غلظت نیتروژن آمونیاکی در ۴ ساعت پس از انکوباسیون را کاهش دهد ( $p < 0.05$ ). در همین سطح با افزایش زمان انکوباسیون (بعد از ۴ ساعت) غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره ۱۲ تا ۱۴ در مقایسه با شاهد بیشتر بود. اگر به تاثیر نوع ماده معدنی در هر سطح توجه شود استفاده از ۲ درصد بنتونیت طبیعی در ۲ و ۴ ساعت پس از انکوباسیون و در ۶ تا ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون، بنتونیت فرآوری شده، بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی داشت و این کاهش در ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون نسبت به جیره ۱۰ و ۱۱ معنی دار بود ( $p < 0.05$ ).

هر چند کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی با استفاده از ۴ درصد ماده معدنی نسبت به ۲ درصد بیشتر بود ولی این کاهش در مورد همه جیره‌ها یکسان نبود. به گونه‌ای که جیره ۱۳ پس از ۲ ساعت و جیره ۱۲ پس از ۴، ۸، ۱۲ و ۲۴ ساعت بیشترین تاثیر را در کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی داشت و در ۴ و ۱۲ ساعت پس از انکوباسیون تفاوت غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره ۱۲ با جیره شاهد، معنی دار بود ( $p > 0.05$ ).

جدول ۶- غلظت نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در لیتر) در ساعات مختلف پس از انکوباسیون: ۷۰ درصد پروتئین قابل تجزیه در کل پروتئین خام

غلظت نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در لیتر)	۲۴	۱۲	۸	۶	۴	۲
بن‌تونیٲ فرآوری شده (۹)	۳۲۴/۳۳ ± ۶/۱۸ <sup>a</sup>	۲۵۹/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>b</sup>	۲۴۵/۸۰ ± ۰/۳۰	۲۲۴/۰۰ ± ۱/۶۹ <sup>b</sup>	۲۵۱/۰۰ ± ۳/۰۲	۲۵۰/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>
بن‌تونیٲ طبیعی (۱۰)	۳۰۸/۰۰ ± ۴/۰۵ <sup>b</sup>	۲۸۰/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲۴۲/۶۷ ± ۲/۳۴	۲۴۰/۳۳ ± ۶/۱۸ <sup>ab</sup>	۲۴۷/۳۳ ± ۶/۱۸	۲۳۱/۰۰ ± ۰/۲۰ <sup>b</sup>
کلینیتولیت (۱۱)	۳۳۶/۶۷ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۸۰/۰۰ ± ۸/۰۷ <sup>a</sup>	۲۴۶/۳۳ ± ۶/۱۷	۲۴۵/۳۳ ± ۲/۳۱ <sup>a</sup>	۲۴۸/۲۲ ± ۲/۴۰ <sup>ab</sup>	۲۴۷/۳۳ ± ۶/۱۸ <sup>ab</sup>
شاهد (۸)	۳۱۵/۰۰ ± ۱/۸۰ <sup>ab</sup>	۲۵۴/۰۰ ± ۴/۱۴ <sup>b</sup>	۲۵۲/۰۰ ± ۴/۰۴	۲۲۶/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>ab</sup>	۲۵۲/۳۳ ± ۶/۱۷	۲۳۳/۳۳ ± ۱۰/۱۷ <sup>b</sup>
بن‌تونیٲ فرآوری شده (۱۲)	۳۱۷/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>b</sup>	۲۷۳/۰۰ ± ۴/۰۵ <sup>c</sup>	۲۵۴/۳۳ ± ۱۰/۱۷ <sup>b</sup>	۲۷۰/۸۷ ± ۱۰/۱۸ <sup>a</sup>	۲۲۹/۸۰ ± ۲/۳۳ <sup>b</sup>	۲۲۸/۸۰ ± ۶/۱۸
بن‌تونیٲ طبیعی (۱۳)	۳۳۹/۰۰ ± ۴/۰۵ <sup>ab</sup>	۲۸۹/۳۲ ± ۲/۳۴ <sup>b</sup>	۲۷۷/۶۷ ± ۱۰/۱۸ <sup>ab</sup>	۲۵۹/۰۰ ± ۱/۶۰ <sup>a</sup>	۲۴۰/۲۲ ± ۲/۲۱ <sup>b</sup>	۲۲۴/۰۰ ± ۴/۰۵
کلینیتولیت (۱۴)	۳۴۵/۳۳ ± ۱۰/۱۷ <sup>a</sup>	۳۱۰/۲۱ ± ۲/۱۷ <sup>a</sup>	۲۸۹/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۶۶/۰۲ ± ۲/۱۲ <sup>ab</sup>	۲۳۳/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>b</sup>	۲۲۲/۳۳ ± ۸/۴۱
شاهد (۸)	۳۱۵/۰۰ ± ۰/۸۰ <sup>b</sup>	۲۵۴/۱۲ ± ۴/۱۴ <sup>d</sup>	۲۵۲/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>b</sup>	۲۲۶/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>b</sup>	۲۵۲/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۳۳/۳۳ ± ۱۰/۱۷

جدول ۵- غلظت نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در لیتر) در ساعات مختلف پس از انکوباسیون: ۶۰ درصد پروتئین قابل تجزیه در کل پروتئین خام

غلظت نیترژن آمونیاکی (میلی گرم در لیتر)	۲۴	۱۲	۸	۶	۴	۲
بن‌تونیٲ فرآوری شده (۲)	۲۸۹/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>c</sup>	۲۴۸/۵۰ ± ۲/۶۸ <sup>ab</sup>	۲۴۰/۳۳ ± ۲/۳۰ <sup>a</sup>	۲۲۱/۵۰ ± ۲/۴۰ <sup>b</sup>	۲۲۰/۵۰ ± ۲/۵۰ <sup>ab</sup>	۲۰۸/۸۳ ± ۵/۸۳
بن‌تونیٲ طبیعی (۳)	۲۹۴/۲۲ ± ۴/۰۴ <sup>c</sup>	۲۴۱/۵۰ ± ۲/۰۲ <sup>b</sup>	۲۲۲/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>b</sup>	۲۲۱/۳۳ ± ۶/۱۸ <sup>b</sup>	۲۱۹/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>b</sup>	۲۱۰/۰۰ ± ۶/۹۰
کلینیتولیت (۴)	۳۱۲/۶۵ ± ۶/۱۷ <sup>b</sup>	۲۴۲/۶۷ ± ۲/۳۱ <sup>b</sup>	۲۳۸/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲۳۳/۳۳ ± ۴/۶۷ <sup>a</sup>	۲۲۷/۹۲ ± ۲/۳۲ <sup>a</sup>	۲۱۴/۶۷ ± ۶/۱۷
شاهد (۱)	۳۳۶/۶۵ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۵۲/۰۰ ± ۲/۴۰ <sup>a</sup>	۲۴۰/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۲۹/۶۷ ± ۲/۳۰ <sup>ab</sup>	۲۲۸/۸۷ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۲۴/۰۰ ± ۴/۰۴
بن‌تونیٲ فرآوری شده (۵)	۳۰۲/۳۱ ± ۴/۵۹	۲۵۴/۲ ± ۴/۶۷ <sup>a</sup>	۲۲۶/۳۳ ± ۲/۳۱ <sup>b</sup>	۲۱۹/۳۳ ± ۲/۳۳ <sup>c</sup>	۲۱۴/۶۷ ± ۲/۰۳ <sup>b</sup>	۲۰۳/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>ab</sup>
بن‌تونیٲ طبیعی (۶)	۳۲۲/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>c</sup>	۲۴۷/۲ ± ۲/۰۴ <sup>ab</sup>	۲۳۵/۸۰ ± ۶/۱۷ <sup>ab</sup>	۲۲۱/۶۷ ± ۲/۱۶ <sup>bc</sup>	۱۹۸/۳۳ ± ۲/۳۱ <sup>c</sup>	۱۸۹/۰۰ ± ۱۲/۵۷ <sup>b</sup>
کلینیتولیت (۷)	۳۰۵/۶۷ ± ۲/۶	۲۴۵/۳۱ ± ۲/۱۰ <sup>b</sup>	۲۲۸/۵۰ ± ۴/۰۴ <sup>ab</sup>	۲۲۷/۳۰ ± ۴/۵۹ <sup>ab</sup>	۲۲۱/۸۷ ± ۲/۳۳ <sup>ab</sup>	۲۱۲/۳۳ ± ۶/۱۵ <sup>ab</sup>
شاهد (۱)	۳۳۶/۶۵ ± ۲/۳۳	۲۵۲/۰۰ ± ۰/۴۰ <sup>ab</sup>	۲۴۰/۳۳ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۲۹/۶۷ ± ۲/۳۱ <sup>a</sup>	۲۲۸/۸۷ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۲۴/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>

نیز به این تفاوت کمک کرد (۹، ۲۶).

#### ب- سطح دوم پروتئین قابل تجزیه: ۷۰ درصد کل پروتئین خام

با اضافه کردن هر یک از مواد معدنی افزودنی دو روند کلی در اینجا نیز مشهود است. استفاده از ۲ درصد ماده معدنی در ساعات اولیه انکوباسیون نتوانسته مانع از افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی شود. در این سطح پس از ۴ ساعت، میزان نیتروژن آمونیاکی در محیط انکوباسیون جیره شاهد، بیشتر از بقیه جیره‌هاست (۵/۰ < p) ولی در ساعات بعد به دلیل آزاد سازی نیتروژن جذب شده غلظت نیتروژن در محیط انکوباسیون سایر جیره‌ها بیشتر از شاهد بود. هر چند با استفاده از ۴ درصد ماده معدنی افزودنی (جیره های ۱۲، ۱۳ و ۱۴) غلظت نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با شاهد کمتر شد و این روند خصوصاً بعد از ۴ ساعت در مورد جیره های ۱۲ و ۱۴ مشهود بود (۱/۰ < p) ولی پس از ۴ ساعت به دلیل آزاد سازی مجدد نیتروژن آمونیاکی از بنتونیت و کلینوپتیلولیت غلظت آن نیز افزایش یافت، به گونه‌ای که در جیره شاهد کمتر از بقیه بود (۱/۰ < p).

علاوه بر آزادسازی نیتروژن و بالا رفتن غلظت آن در محیط، جمعیت میکروبی نیز می‌تواند در این تاثیر سهیم باشد چرا که به دلیل بسته بودن سیستم و عدم ورود دائم ماده مغذی مورد نیاز میکروب‌ها خصوصاً کربوهیدرات‌ها و عدم خروج مواد از محیط، رشد میکروبی پس از مدتی کاهش می‌یابد. این کاهش رشد می‌تواند در افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی نیز سهیم باشد. Blummel و همکاران (۷) گزارش کردند که با گذشت زمان در شرایط آزمایشگاهی تعدادی از میکروب‌ها مرده و به سوسترای اضافی برای سایر میکروب‌ها تبدیل می‌شوند.

۴ ساعت پس از انکوباسیون میزان جذب نیتروژن آمونیاکی با استفاده از ۴ درصد بنتونیت فرآوری شده بیشتر از ژئولیت بود (۵/۰ < p) تفاوت این امر تا حدی به ساختمان بنتونیت و کلینوپتیلولیت و نحوه عمل آنها در جلوگیری از بالا رفتن غلظت نیتروژن آمونیاکی مربوط می‌شود. زیرا همان‌گونه که اشاره شد بنتونیت علاوه بر خاصیت تعویض کاتیونی و جذب مستقیم؛ با جذب برخی پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه از افزایش غیر مستقیم غلظت نیتروژن آمونیاکی جلوگیری می‌کند ولی مکانیزم کاهش غلظت در کلینوپتیلولیت عمدتاً جذبی است (۸، ۲۳، ۲۵، ۲۹).

Vardyova و همکاران (۳) نیز با استفاده از آلومینوسیلیکات‌ها همراه برخی از مواد خوراکی به بررسی اثر آنها بر تخمیر میکروبی در شرایط آزمایشگاهی پرداختند و نشان دادند که تاثیر این مواد یکسان نبوده و بیشترین تاثیر بر بهبود متابولیسم و تخمیر میکروب‌ها، به ترتیب مربوط به بنتونیت، گرانیت، ژئولیت و کانولین بود. از جمله خصوصیات بنتونیت افزایش خاصیت تعویض کاتیونی با کاهش pH محیط است به همین دلیل، به مرور زمان و پیشرفت فرایند تخمیر، pH نیز کاهش می‌یابد و در نتیجه میزان تبادل نیتروژن آمونیاکی جذب شده با یون‌های موجود افزایش می‌یابد، از این رو افزایش غلظت نیتروژن آمونیاکی در ساعات آخر انکوباسیون را سبب شود. برعکس این موضوع، وجود برخی ترکیبات مثل کربنات سدیم در محلول سبب افزایش خاصیت جذب نیتروژن آمونیاکی می‌شود که این امر خصوصاً در ساعات اولیه می‌تواند موثر باشد (۲۵).

#### ج- سطح سوم پروتئین قابل تجزیه: ۸۰ درصد کل پروتئین خام

اضافه کردن ۲ درصد از ماده معدنی افزودنی (جیره های ۱۶، ۱۷ و ۱۸) تا ۴ ساعت پس از انکوباسیون تاثیر معنی داری بر کاهش غلظت نیتروژن

به جیره شاهد (۴) (۸۷/۹۸ درصد) بود. هر چند در بین جیره‌های آزمایشی بیشترین قابلیت هضم پروتئین (۸۳/۲۶ درصد) مربوط به جیره ۱ بود ولی تفاوت آن با جیره‌های ۲ و ۳ (به ترتیب ۷۸/۲۲ و ۷۸/۶۹) معنی دار نبود (۵/۰ < p).

### بحث

#### غلظت نیتروژن آمونیاکی

##### الف- سطح اول پروتئین قابل تجزیه: ۶۰ درصد کل پروتئین خام

اطلاعات مربوط به این مرحله از آزمایش در جداول ۵، ۶ و ۷ گزارش شده است. طبق این نتایج در ۲ ساعت اول پس از انکوباسیون با اضافه کردن ۲ درصد ماده معدنی غلظت نیتروژن آمونیاکی در جیره‌های ۲ تا ۴ کمتر از جیره ۱ بود هر چند در ساعات بعدی تفاوت غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره شاهد با سایر جیره‌ها از این نظر کمتر شد ولی این اختلاف تا ۲۴ ساعت پس از انکوباسیون نسبت به جیره شاهد وجود داشت. همین روند در خصوص اضافه کردن ۴ درصد ماده معدنی مشاهده شد. به گونه‌ای که پس از ۲ ساعت انکوباسیون بیشترین غلظت نیتروژن آمونیاکی مربوط به جیره شاهد و کمترین آن مربوط به جیره‌های ۵ تا ۷ بود که در ساعات بعدی به تدریج با جایگزینی و آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی و همین‌طور تجزیه پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه آزاد شده این اختلاف کمتر شد و حتی در برخی موارد غلظت نیتروژن آمونیاکی بیشتر از گروه شاهد بود (۵/۰ < p). در هنگام استفاده از بنتونیت کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به دو شکل ممکن صورت می‌گیرد. ۱- به دلیل وجود بارهای سطحی در پروتئین‌ها (۱۲) و همین‌طور بار مخالف در سطح بنتونیت، پروتئین و اسیدهای آمینه بواسطه جذب سطحی تا حدی از تخمیر میکروبی، محافظت می‌شوند که می‌تواند باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شود (۸، ۲) - وجود خاصیت تعویض کاتیونی نیز در بنتونیت، سبب می‌شود تا یون آمونیم با کاتیون‌های موجود در ساختمان بنتونیت مبادله و از این طریق نیز بین جیره شاهد با جیره دارای بنتونیت فرآوری شده و نشده، خصوصاً ۴ ساعت پس از انکوباسیون در هر دو سطح ۲ و ۴ درصد تفاوت مشاهده شود (۵/۰ < p). این تاثیر در بنتونیت طبیعی بیشتر از بنتونیت فرآوری شده بود که از دلایل این امر می‌توان به تاثیر حرارت بر خصوصیات بنتونیت اشاره کرد (۱۱) در حالی که به نظر می‌رسد دلیل اصلی تفاوت در غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره‌های دارای کلینوپتیلولیت و شاهد، در هر دو سطح، جذب نیتروژن آمونیاکی توسط کلینوپتیلولیت باشد.

همچنین در کلینوپتیلولیت نیز به دلیل اینکه یون آمونیم با کاتیون‌های موجود در ساختمان آن قابل مبادله می‌باشد نیتروژن آمونیاکی جیره‌های دارای کلینوپتیلولیت در هر دو سطح، در مقایسه با جیره شاهد کمتر بود. عوامل زیادی بر میزان نگهداری نیتروژن آمونیاکی توسط کلینوپتیلولیت تاثیر دارند که از آن جمله می‌توان به غلظت یون پتاسیم و ترکیبات آلی اشاره نمود که به ترتیب اثر منفی و مثبت بر این خاصیت کلینوپتیلولیت دارند. از سوی دیگر با توجه به اینکه جذب نیتروژن آمونیاکی توسط کلینوپتیلولیت نامحدود نمی‌باشد، استفاده از ۴ درصد کلینوپتیلولیت نسبت به ۲ درصد تاثیر بیشتری داشت (۲۱).

بین غلظت نیتروژن آمونیاکی جیره ۷ و شاهد (خصوصاً ۲ ساعت پس از انکوباسیون) تفاوت وجود داشت ولی به مرور با آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی، به دلیل تعویض کاتیونی این تفاوت کمتر شد. هر چند مصرف نیتروژن بیشتر توسط میکروارگانیسم‌ها، در ساعات اولیه پس از انکوباسیون



جدول ۸ - قابلیت همضم پروتئین (در روده) و قابلیت حل پروتئین خام در شرایط درون شیشه ای (in-vitro)

نوع ماده افزودنی جیره	قابلیت همضم (درصد)	پروتئین قابل حل (درصد)	پروتئین قابل حل (درصد)	یونجه	پروتئین جیره های آزمایشی
بنتونیت فرآوری شده (۱)	۸۳/۲۶ ± ۱/۰۳ <sup>ab</sup>	۳۶/۸۴ ± ۱/۶۱	۳۰۸/۰۰ ± ۲/۲۰ <sup>b</sup>	۹/۶۰ ± ۰/۵۸ <sup>ab</sup>	۸۳/۲۶ ± ۱/۰۳ <sup>ab</sup>
بنتونیت طبیعی (۲)	۷۸/۲۲ ± ۲/۱۸ <sup>b</sup>	۳۷/۸۴ ± ۱/۳۹	۳۳۸/۳۳ ± ۲/۳۲ <sup>a</sup>	۱۰/۰۷ ± ۱/۱۲ <sup>a</sup>	۷۸/۲۲ ± ۲/۱۸ <sup>b</sup>
کلینوپتیلولیت (۳)	۷۸/۶۹ ± ۱/۴۷ <sup>b</sup>	۳۶/۹۹ ± ۱/۹۳	۲۸۹/۳۳ ± ۲/۳۰ <sup>c</sup>	۹/۴۶ ± ۱/۲۱ <sup>b</sup>	۷۸/۶۹ ± ۱/۴۷ <sup>b</sup>
شاهد (۴)	۸۷/۹۸ ± ۱/۳۳ <sup>a</sup>	۳۶/۵۳ ± ۰/۳۵	۲۸۰/۰۰ ± ۲/۲۰ <sup>d</sup>	۹/۵۰ ± ۱/۰۱ <sup>b</sup>	۸۷/۹۸ ± ۱/۳۳ <sup>a</sup>

عدم درج حروف و حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم تفاوت معنی دار است (p < ۰.۰۵).

جدول ۷ - غلظت نیتروژن آمونیاکی (میلی گرم در لیتر) در ساعات مختلف پس از انکوباسیون: ۸۰ درصد پروتئین قابل تجزیه در کل پروتئین خام

بنتونیت فرآوری شده (۱۶)	۲۷۵/۳۳ ± ۶/۱۷	۲۸۷/۰۰ ± ۴/۰۴	۳۱۰/۳۱ ± ۴/۶۷	۲۸۷/۰۰ ± ۴/۰۴	۲۷۵/۳۳ ± ۶/۱۷
بنتونیت طبیعی (۱۷)	۲۸۰/۰۰ ± ۱۲/۱۲	۲۹۹/۳۳ ± ۶/۱۷	۳۲۴/۳۲ ± ۸/۴۱	۲۹۹/۳۳ ± ۶/۱۷	۲۸۰/۰۰ ± ۱۲/۱۲
کلینوپتیلولیت (۱۸)	۲۶۷/۰۰ ± ۴/۰۰	۲۹۶/۳۳ ± ۶/۱۷	۳۰۱/۰۰ ± ۴/۵۷	۲۹۶/۳۳ ± ۶/۱۷	۲۶۷/۰۰ ± ۴/۰۰
شاهد (۱۵)	۲۸۳/۰۰ ± ۴/۰۴	۲۹۴/۲۱ ± ۱/۱۵	۲۹۵/۰۰ ± ۴/۱۰	۲۹۴/۲۱ ± ۱/۱۵	۲۸۳/۰۰ ± ۴/۰۴
بنتونیت فرآوری شده (۱۹)	۲۵۱/۳۳ ± ۱۲/۳۵ <sup>b</sup>	۲۵۰/۳۲ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۶۳/۶۷ ± ۶/۱۷ <sup>b</sup>	۲۵۰/۳۲ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۵۱/۳۳ ± ۱۲/۳۵ <sup>b</sup>
بنتونیت طبیعی (۲۰)	۲۷۵/۳۳ ± ۱۱/۸۷ <sup>ab</sup>	۲۸۰/۳۲ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۸۰/۳۲ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۸۰/۳۲ ± ۲/۳۳ <sup>a</sup>	۲۷۵/۳۳ ± ۱۱/۸۷ <sup>ab</sup>
کلینوپتیلولیت (۲۱)	۲۸۱/۳۳ ± ۱۰/۱۷ <sup>a</sup>	۲۸۹/۴۱ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۳۱۵/۰۰ ± ۱/۱۲ <sup>a</sup>	۲۸۹/۴۱ ± ۶/۱۷ <sup>a</sup>	۲۸۱/۳۳ ± ۱۰/۱۷ <sup>a</sup>
شاهد (۱۵)	۲۸۳/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>	۲۹۴/۰۰ ± ۱/۱۵ <sup>c</sup>	۲۹۵/۰۰ ± ۱/۱۵ <sup>c</sup>	۲۹۴/۰۰ ± ۱/۱۵ <sup>c</sup>	۲۸۳/۰۰ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>

عدم درج حروف و حروف مشابه در هر ستون (در هر سطح افزودنی) بیانگر عدم تفاوت معنی دار است (p > ۰.۰۵).

آمونیاکی نداشت (p > ۰/۰۵) علاوه بر این آزاد شدن نیتروژن آمونیاکی جذب شده سبب بالا رفتن غلظت نیتروژن آمونیاکی به طور معنی داری نسبت به شاهد پس از ۴ ساعت انکوباسیون شد (p < ۰/۰۵).

استفاده از ۴ درصد بنتونیت فرآوری شده (جیره ۱۹) سبب کاهش معنی دار غلظت نیتروژن آمونیاکی تا ۶ ساعت پس از انکوباسیون شد (p < ۰/۰۵). ولی کلینوپتیلولیت ۲ ساعت پس از انکوباسیون تاثیر معنی داری بر کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی داشت. همان دلایلی که در خصوص اثرات مشاهده شده در قسمت‌های قبلی اشاره شد در اینجا نیز صادق است. علاوه بر شباهت‌ها، تفاوت‌هایی نیز بین جذب نیتروژن آمونیاکی در بنتونیت و کلینوپتیلولیت دیده می‌شود که از آن جمله می‌توان به تاخیر در جذب نیتروژن آمونیاکی توسط کلینوپتیلولیت نسبت به بنتونیت اشاره کرد چرا که به دلیل خلل و فرج دار بودن ساختمان زئولیت، این تاخیر می‌تواند به دلیل عبور یون‌ها و نفوذ به درون حفرات کلینوپتیلولیت باشد. علاوه بر این نوع زئولیت به کار برده شده

در مراحل بعدی را کاهش داده است (۳۲،۶). در حالی که در بنتونیت فراوری شده این گونه نبود و با توجه به تغییراتی که حرارت در ساختمان بنتونیت پدید می‌آورد می‌توان این نتیجه را نیز توجیه نمود (۱۱، ۱۵). Galyean و Mccollum (۲۰) با استفاده از ۱/۲۵، ۲/۵ و ۵ درصد کلینوپتیلولیت مشاهده کردند که قابلیت هضم ماده خشک در کل دستگاه گوارش با افزایش سطح کلینوپتیلولیت کاهش یافت ولی برعکس این مطلب، قابلیت هضم پروتئین در کل دستگاه گوارش ۱ تا ۳ درصد افزایش یافت. همین نتیجه توسط Murzin و Peshkova (۲۲) نیز تایید شد، در حالی که Ivan (۱۵) ملاحظه نمود که استفاده از بنتونیت طبیعی میزان قابلیت هضم پروتئین در دستگاه گوارش را کاهش می‌دهد. ماهیت خوراک مصرفی و سطح پروتئین جیره می‌تواند بر نحوه تاثیر گذاری این افزودنی‌های معدنی بر پروتئین مصرفی موثر باشد و از این رو ممکن است نتایج متفاوتی حاصل شود.

بر اساس نتایج این آزمایشات، استفاده از ۲ درصد بنتونیت فراوری شده و نشده یا کلینوپتیلولیت تاثیر بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در شرایط آزمایشگاهی نداشت. نکته قابل تامل اینکه بنتونیت فراوری شده در مقایسه با کلینوپتیلولیت رفتار متفاوتی با توجه به میزان تجزیه پذیری پروتئین دارد. به عبارت دیگر زمانی که نسبت پروتئین قابل تجزیه در شکمبه پائین است، بنتونیت فراوری شده تاثیر بیشتری نسبت به کلینوپتیلولیت دارد ولی در سطوح بالاتر پروتئین قابل تجزیه، تفاوتی بین این دو افزودنی معدنی مشاهده نشد. در مجموع استفاده از ۴ درصد این مواد معدنی، به‌طور موثری غلظت نیتروژن آمونیاکی را خصوصاً در ساعات اولیه پس از انکوباسیون کاهش داده، و این اثر با بالاتر رفتن میزان تجزیه پذیری پروتئین بیشتر شد. از این رو با توجه به میزان تجزیه پذیری پروتئین جیره و در دسترس بودن، استفاده از ۴ درصد بنتونیت فراوری شده یا کلینوپتیلولیت به منظور جلوگیری از مسمومیت آمونیاکی قابل توصیه است ولی لازم است آزمایشات تکمیلی در این خصوص به عمل آید.

### سیاسگزار

از ریاست محترم موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، معاونت‌های محترم پژوهشی، مالی اداری؛ بخش‌های تغذیه و فیزیولوژی، مدیریت و پرورش دام، مسئولین و کلیه پرسنل زحمت کش مزرعه آموزشی و پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران که در مراحل مختلف با اینجانب همکاری داشته‌اند کمال تشکر را دارم.

### پاورقی‌ها

- 1-Montmorillonite
- 2-Clinoptilolite
- 3- X-Ray-Diffraction

### منابع مورد استفاده

- ۱ - بینام، ۱۳۸۲؛ وزارت صنایع. گزارش وضعیت معادن فعال بنتونیت در ایران. وزارت صنایع و معادن.
- ۲ - حجازی م. م. قربانی. ۱۳۷۳؛ زمین‌شناسی ایران. بنتونیت زئولیت. انتشارات سازمان زمین‌شناسی کشور.
- ۳ - نیکخواه، ع. م. ع. زهری ۱۳۷۶؛ وضعیت پروتئین حیوانی، گزارش نهایی طرح آینده غذا. گروه علوم کشاورزی، فرهنگستان علوم جمهوری اسلامی ایران.
- 4- Abdullah, N., H. Hanita, H. Kudo, S. Jalaludin, and M. Ivan. 1995;

نیز می‌تواند در این تفاوت موثر باشد (۲۱). این تفاوت‌های ساختمانی منجر به اثرات دیگری نیز می‌شود. به‌عنوان مثال در بنتونیت قدرت جایگزینی یون آمونیوم از پتاسیم بالاتر است در حالی که در کلینوپتیلولیت عکس این موضوع صادق است و یون پتاسیم بر جذب یون آمونیوم ارجحیت دارد و وجود این یون در محیط سبب تفاوت عملکرد بنتونیت و کلینوپتیلولیت می‌شود (۲۹) علاوه بر این، وجود پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه در محیط، جذب یون آمونیوم توسط کلینوپتیلولیت را کاهش می‌دهد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج ارائه شده توسط سایر محققین نیز همخوانی داشت (۱۴، ۲۸).

### قابلیت حل پروتئین در شکمبه

تاثیر هر یک از مواد افزودنی بر قابلیت حل پروتئین یونجه و کنجاله سویا در جدول ۸ گزارش شده است. بر اساس این اطلاعات بنتونیت طبیعی سبب افزایش قابلیت حل پروتئین یونجه و کنجاله سویا در شرایط آزمایشگاهی شد و این اختلاف فقط در مورد یونجه معنی دار بود ( $p < 0/05$ ). هر چند محلول بودن دقیقاً معادل تجزیه پذیر بودن پروتئین در شکمبه نیست ولی ابزار مناسبی جهت پیش بینی میزان تجزیه پذیری پروتئین در شکمبه است (۱۷، ۳۰). در عین حال با هر روشی که تجزیه‌پذیری دقیقاً اندازه گیری شود کافی نخواهد بود، چرا که علاوه بر ماهیت، سرعت عبور مواد از شکمبه نیز بر تجزیه‌پذیری پروتئین موثر است. از جمله عوامل تاثیر گذار بر تجزیه پروتئین، ماهیت محیط اطراف آنهاست. زمانی که pH محیط نزدیک به نقطه ایزوالکتریک پروتئین باشد به دلیل اینکه بار خالص پروتئین صفر است، رسوب پروتئین در محلول شروع می‌شود. به‌دلیل متفاوت بودن اسیدهای آمینه در پروتئین‌های مختلف pH ایزوالکتریک آنها نیز متفاوت است و هر عاملی که pH محیط را به این نقطه نزدیک کند رسوب آنها را تسریع می‌کند. علاوه بر این پروتئین‌ها در محلول‌های نمکی رقیق نسبت به آب خالص محلولیت بیشتری دارند (۱۲). از این رو تاثیر غیر مستقیم بنتونیت طبیعی بر محلولیت بیشتر پروتئین می‌تواند به واسطه سازو کارهای نامبرده خصوصاً pH محلول باشد. نتیجه آزمایشات بعدی بر روی دام در ادامه این پژوهش این مطلب را تایید کرد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج Ghoshal و همکاران (۱۳) و Voence و Cherney (۱۰) مطابقت داشت.

### قابلیت هضم پروتئین در روده

بر اساس اطلاعات ارائه شده در جدول ۸، استفاده از بنتونیت طبیعی و کلینوپتیلولیت قابلیت هضم پروتئین در روده را در شرایط آزمایشگاهی بطور معنی‌داری کاهش دادند ( $p < 0/05$ ) ولی بنتونیت فراوری شده تاثیر معنی‌داری بر قابلیت هضم پروتئین نداشت. کلینوپتیلولیت به دلیل ساختمان خاص خود دارای خاصیت غربال مولکولی می‌باشد. چنین خاصیتی به کلینوپتیلولیت این اجازه را می‌دهد که برخی ترکیبات خاص را در ساختمان خود حفظ کند. این خاصیت برای تمامی ترکیبات یکسان نیست. به‌عنوان مثال هر چه طول زنجیره کربنی بیشتر شود میزان جذب زئولیت کمتر خواهد شد. احتمالاً محبوس شدن برخی پروتئین‌ها و عدم دسترسی برخی آنزیم‌ها به آن می‌تواند از دلایل این موضوع باشد (۵). بنتونیت طبیعی نیز هر چند دارای خاصیت جذبی می‌باشد ولی ممکن است این اثرات همیشه مثبت نباشد. در حالی که برخی مواد طبیعی مثل تانن، کمپلکسی با پروتئین ایجاد می‌کنند که این کمپلکس در pH شیردان تجزیه می‌شود (۱۸)، ممکن است کمپلکس ایجاد شده در خصوص پروتئین با بنتونیت طبیعی و کلینوپتیلولیت به نحوی بوده که قابلیت هضم

- The effect of bentonite on rumen protozoal population and rumen fluid characteristics of sheep fed palm kernel cake. *Asian- Australasian J. Anim. Sci.* 8:249-254.(Abst.).
- 5- Bahry, E., and S. Mehmeds. 2003; Effect of hydrocarbon chain length on adsorption of cationic surfactants on to clinoptilolite. *Clay and Clay Mine.* 51:172-180.
- 6-Berger, D.,G. Romello, C. Sarra, and A. Angelo. 1995; Effect of natural clinoptilolite or philipstie in lactating dairy cow. Sofia zeolite meeting. 95-98 (abst.).
- 7-Blummel, M.,H Steingass and K. Becker.1994; Partitioning of *in-vitro* fermentation products and its bearing for prediction of voluntary feed intake.*Anim feed sci. Technol.*47:238-245
- 8-Brigatti, M. F., C. L. Montrosi, and L. Poppi. 1999; Effects of Exchange cation and layer charge location on cysteine retention by smectics. *Clays and Clay miner.* 5: 664-671.
- 9-Calsamiglia, S. and M. D. Stern. 1995; A three step procedure for estimating digestion of protein in ruminants. *J. Anim. Sci.* 73: 1459-1465.
- 10-Cherney, D.J., and J., Voence. 1992; Protein solubility and degradation *in vitro* as influenced A by buffer and maturity of alfalfa *Anim. Feed Sci. Technol.* 37 : 9-20.
- 11-Chrom, M., and P. , Rengas. 1996; Effect of swelling and dispersion of different cationic form of smectics. *Clay and clay mineral.* 44 : 783-790
- 12-Creighton, T. E. 1992; *Proteins: Structures and molecular properties* (second ed.) New York. USA.
- 13-Ghoshal, T. K., A., Saltan , and S. O. Raoof.1998; Effect of bentonite supplementation on nitrogen metabolism from diets containing urea in cattle. *Dir sat Agricultural Science* 25:3 481-497(Abst).
- 14-Histrov, A. N., M. Ivan, and N. , Neil . 2003; Evaluation of several bioactive agent for reducing protozoal activity *in-vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 105:163-184.
- 15- Ivan, M. 1992; Effects of bentonite and monensine on selected elements in the stomach &liver of Fauna-Free and faunated sheep. *J. Dairy. Sci.* 75:201-208
- 16- Ivan. M. 1994; Effects of supplemental bentonite or a chemical treatment on the ruminal degradability of soybean meal. *Proceeding of the AAAP.* 165-166 (Abst.).
- 17-Licitra, G. T., M. Fernandez, and P. J. Vansoest. 1996; Standardization of procedures for nitrogen fraction of ruminant feeds. *Anim. feed Sci. Technol.* 57: 374-358
- 18-Makkar, H. P. S., M. Blummel and K. Becker. 1993; Behavior of tannic acid from various commercial sources toward redox, metal complexing and protein participating assay of tannins. *J. Sci food Agriculture.* 61:161-166.
- 19-Menke, K. H.,L. Rabb,A. Salewski, H.stingass and W.Schnider.1979;The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liqure in-vitro .*Jr Agr.Sci. (Camb.)* 93: 217-222
- 20-Mccollum, f. T., and M.L., Galyean. 1983; Effects of clinoptilolite on rumen fermentation and feedlot performance in beef steer fed nigh concentrate diets *J. Anim. Sci.* 56:517-521.
- 21-Mumpton, F. A., and P. H. fisherman. 1977; The application of natural zeolites in animal science and aquaculture. *J. Anim. Sci.:* 45, 1188-1203
- 22-Murzin, Y. U., and I. Peshkova. 1995; A new type of supplement for fattening cattle. *Z. Skotrodstrozo.* 26: 9034-9041(Abst.).
- 23-Nikkhah,A.,A.R. Safamehr and M.,Moradi Shahre Babak.2001; Effect of natural clinoptilolite - rich tuff and sodium bicarbonate on milk yield, milk composition and blood profile in holstein cows.13Th international conference ,Montpelleir,France
- 24-National Research council .1996; Nutrient requirements of beef cattle. National Academy Press. Washington D. C.
- 25-Olplen, V. 1972 ; *An Introduction to clay colloid chemistry* 2Ed. John Willey & Sons inc.Soil Science series Inc Ltd.New York.
- 26-Pond, W. G. 1989; Effects of dietary Protein and clinoptilolite on weight gain and liver mineral response of growing lambs to copper supplementation. *J. Anim Sci.* 67:2772-79.
- 27-Preston, T. R. 1986; Better utilization of crop residues and any By-products in animal feeding *Research guidelines.Practical Manual for Research workers.FAO,Rome,P:80-114*
- 28-Saleh. M. ,and A.B., Bonf. 2000; Bentonite supplementation to concentrate for lactation buffaloes. *Egypt. Jr Nut. Feeds.* 67-78 (Abst.).
- 29-Stephenson, R. G., L., Hoff, P. Gaye, and C. J. Howitt. 1992; Effect of molasses, sodium bentonite and zeolite on urea toxicity. *Aust. Jr. Agr. Res.* 43: 301-310
- 30-Van soest, P. J. 1994; *Nutritional ecology of the ruminant.* Cornell University Press. Ithaca. USA
- 31-Varadyova, Z., M. Baran, P., Siroka ,and I. Styraleova. 2003; Effect of silicate minerals (zeolite bentonite, kaolin, granite) on *in-vitro* Fermentation of amorphous cellulose, meadow hay, wheat straw and burley. *Berlin und munchener wochenschrift.* 116:317-321 (Abst.).
- 32-Waghorn, G. C., W. T. ,Jones , and W. C. ,Mcnabb .1990; Condensed tannis and nutritive value of herbage. *Proceeding of the Newzealand, Grassland Association.* 51: 174-176(Abst.).
- 33-Walz, L. S., and T.W .White. 1998; Effects of fish meal and Sodium Bentonite on daily gain, wool growth, carcass characteristics , ruminal and blood characteristics of Lambs fed concentrate diets. *J. Anim. Sci.* 76:2025 - 2031.