Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Effect of rumen protected Methionine on blood parameters, milk production, and milk composition of Alpine dairy goats

Mehdi Ganjkhanlou[1*], Javad Baqeri[2], Abolfazl Zali[3], Ahmadreza Alipour[4]

[1] Associated Professor, Department of animal science, College of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran, Email: Ganjkhanlou@ut.ac.ir

[2]Graduated M.Sc. student, Department of animal science, College of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran, Email: bagheri@ut.ac.ir

[3] Associated Professor, Department of animal science, College of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran, Email: zali.a@ut.ac.ir

[4] M.Sc. student, Department of animal science, College of agriculture and natural resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran, Email: ahmadrezaalipour@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 12/08/2022
Revised: 04/10/2023
Accepted: 04/11/2023

Keywords:
Blood parameters
Milk components
Milk production
Rumen protected
Methionine

ABSTRACT

Background & Objective: Supplementation of protein sources with low degradability in the rumen improves the efficiency of nitrogen utilization and causes the optimal amino acid pattern in the surface of the small intestine. On the other hand, maximum production requires sufficient amounts of essential amino acids to support the physiological and productive requirements of livestock. Therefore, the use of rumen protected amino acid supplements is recommended. Lysine and methionine are known as limiting amino acids in milk production. In addition, methionine plays a unique role as an initiator amino acid in protein production. This study was conducted to evaluate the degradability and digestibility of rumen protected methionine and to investigate its effects on blood parameters, milk production, and milk components in Alpine dairy goats.

Materials and Methods: The present study was conducted in two steps. In the first step, which was carried out in the form of a completely randomized design with 20 replications for each treatment, the rumen degradability and post-ruminal digestibility of methionine coated by prill fat and unprotected methionine were compared using fistulated Holstein cows. In the second step of the experiment, 45 lactating Alpine dairy goats with a weight range of 50-65 kg and age range of 24-36 months and lactation days of 200 were randomly allocated to three experimental treatments in a completely randomized design with 15 replications in each treatment, including control (basal diet without rumen protected methionine), basal diet plus 2.5 grams of commercial rumen protected methionine and basal diet plus 2.5 grams of rumen protected methionine coated by prill fat *in vitro*, for 4 weeks, including two weeks of adaptation and two weeks of sampling. The experiment place had an environment with optimal and uniform ventilation conditions, and all goats had equal access to water with optimal quality. Feeding was done three times a day at 8 am, 1 pm, and 8 pm, and milking were done twice a day at 7 am and 7 pm,

milk samples was taken during the last week, and blood sampling was done at the end of the experiment.

Results: According to our findings, the degradability of methionine coated with prill fat showed a significant decrease compared to unprotected methionine ($P<0.001$). Also, the post-ruminal digestibility of rumen protected methionine was 52.23% and the digestibility in the whole digestive tract was 87.97%. According to the results of this study, the effect of experimental treatments on milk production and the percentage of milk components including total solids, fat, protein, lactose, and casein was not significant. Moreover, there was no significant difference between the treatments in blood parameters including glucose, albumin, triglyceride, cholesterol, and total protein.

Conclusion: According to our findings, the use of prill fat, including a mixture of saturated fatty acids, as a protective coating against ruminal fermentation, can be effective in inhibiting the microbial degradation of valuable protein sources.

Cite this article: Ganjkhanlou, M., Baqeri, J., Zali, A., Alipour, A.R. (2023). Effect of rumen protected Methionine on blood parameters, milk production and milk composition of Alpine dairy goats. *Journal of Ruminant Research*, 11(2), 131-144.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.20288.1850
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۶۱
شاپا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۴۲۵۳
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

اثر متیونین محافظت‌شده بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر در بزهای شیرده آلپاین

مهدی گنج‌خانلو[1*]، جواد باقری[2]، ابوالفضل زالی[3]، احمدرضا علی‌پور[4]

[1] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران، رایانامه: Ganjkhanlou@ut.ac.ir
[2] دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران، رایانامه: bagheri@ut.ac.ir
[3] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران، رایانامه: Ganjkhanlou@ut.ac.ir
[4] دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم دامی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، البرز، ایران، رایانامه: ahmadrezaalipour@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۷
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۲۲

واژه‌های کلیدی:
ترکیبات شیر
تولید شیر
فراسنجه‌های خونی
متیونین محافظت‌شده

چکیده

سابقه و هدف: مکمل‌سازی منابع پروتئینی با تجزیه‌پذیری پایین در شکمبه، کارایی استفاده از نیتروژن و الگوی اسیدآمینه بهینه در سطح روده باریک را بهبود می‌بخشد. از سویی، تولید حداکثری نیازمند مقادیر کافی اسیدآمینه‌های ضروری است. به‌همین دلیل برای حمایت از نیازهای فیزیولوژیکی و تولیدی دام، استفاده از مکمل اسیدآمینه محافظت‌شده در شکمبه توصیه می‌شود. عمدتاً اسیدآمینه‌های لیزین و متیونین به‌عنوان اسیدآمینه‌های محدودکننده تولید شیر شناخته می‌شوند. همچنین متیونین نقش منحصربه‌فردی را به‌عنوان اسیدآمینه آغازگر در ساخت پروتئین بازی می‌کند. این مطالعه به‌منظور ارزیابی تجزیه‌پذیری متیونین محافظت‌شده و بررسی اثرات آن بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر در بزهای شیری آلپاین انجام شد.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول که در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ تکرار برای هر تیمار انجام شد، قابلیت هضم شکمبه‌ای و پسا شکمبه‌ای متیونین محافظت‌شده با چربی پریل و متیونین محافظت نشده با استفاده از گاوهای هلشتاین فیستولادار، اندازه‌گیری شد. در مرحله دوم آزمایش ۴۵ رأس بز شیرده آلپاین با محدوده وزنی ۶۵-۵۰ کیلوگرم و محدوده سنی ۳۶-۲۴ روزهای شیردهی ۲۰۰ به‌مدت ۴ هفته شامل دو هفته عادت دهی و دوهفته نمونه‌برداری، به‌صورت تصادفی به سه جیره آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه بدون متیونین محافظت‌شده)، جیره پایه به‌علاوه ۲/۵ گرم متیونین محافظت‌شده تجاری و جیره پایه به‌علاوه ۲/۵ گرم متیونین محافظت‌شده سنتز شده داخل آزمایشگاه، اختصاص یافتند بطوریکه هر تیمار شامل ۱۵ تکرار باشد، و عملکرد تولیدی شامل تولید و ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند. محل پرورش دارای سالن‌هایی با شرایط تهویه مطلوب و یکسان بود، و همه بزها دسترسی یکسان به آب با کیفیت مطلوب داشتند. خوراک‌دهی سه نوبت در روز و در ساعت‌های ۸ صبح، ۱ بعدازظهر و ۸ شب انجام می‌شد، همچنین شیردوشی در دو نوبت ۷ صبح و ۷ عصر جهت رکوردگیری و اندازه‌گیری ترکیبات

شیر انجام شد. نمونه‌گیری شیر در طول هفته آخر آزمایش و نمونه‌گیری خون در انتهای آزمایش انجام شد.

یافته‌ها: بر اساس یافته‌های این مطالعه، قابلیت هضم متیونین محافظت‌شده با چربی پریل نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد (P<۰/۰۰۱). همچنین قابلیت هضم پسا شکمبه‌ای متیونین محافظت‌شده۵۲/۲۳ درصد و قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش ۸۷/۹۷ درصد گزارش شد. با توجه به نتایج این مطالعه، اثر تیمارهای آزمایشی بر تولید و درصد ترکیبات شیر شامل کل مواد جامد، چربی، پروتئین، لاکتوز و کازئین معنی‌دار نبود. درمورد فراسنجه‌های خونی شامل گلوکز، آلبومین، تری‌گلیسرید، کلسترول و پروتئین کل نیز در این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از چربی پریل، شامل مخلوطی از اسیدهای چرب اشباع، به‌عنوان پوشش محافظ در برابر تخمیر شکمبه‌ای، می‌تواند در مهار تجزیه باکتریایی منابع پروتئینی با ارزش مؤثر واقع شود.

استناد: گنج‌خانلو، م.، باقری، ج.، زالی، ا.، علی‌پور، ا. (۱۴۰۲). اثر متیونین محافظت‌شده بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر در بزهای شیرده آلپاین. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۱(۲)، ۱۴۴-۱۳۱.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.20288.1850

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

پروتئین موردنیاز حیوان نشخوارکننده باتوجه به ماهیت و ترکیب آن به دو بخش پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه و پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه تقسیم می‌شود، که عدم تعادل بهینه پروتئین قابل‌تجزیه و پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه در جیره نشخوارکنندگان می‌تواند تولید پروتئین میکروبی، راندمان استفاده از نیتروژن، و میزان هضم الیاف و قابلیت دسترسی به سطح بهینه‌ی اسیدهای آمینه در روده باریک را محدود سازد، پروتئین میکروبی نزدیک‌ترین پروفایل را به پروفایل اسیدآمینه موردنیاز حیوان دارد بنابراین باکیفیت‌ترین نوع پروتئین برای حیوان نشخوارکننده است اما ازنظر کمیت تولید آن به‌اندازه‌ای نیست که نیاز حیوان پر تولید را کاملاً برطرف کند (Rostamiو همکاران، ۲۰۱۸). تنها راه تأمین کافی پروتئین برای دام‌های با تولید و سرعت رشد بالا، بدون وارد شدن تنش آمونیاکی، کاهش تجزیه‌پذیری پروتئین در شکمبه می‌باشد (Haddad و همکاران، ۲۰۰۵). اسیدآمینه با منشأ میکروبی درصورتی نیاز حیوان را برطرف می‌سازد که حیوان در حالت نگهداری یا رشد حداقلی باشد، درصورتی‌که برای حداکثر مقدار رشد و تولید، نیاز حیوان را باید از طریق پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه برطرف کرد (Santos و همکاران، ۱۹۹۸). کنجاله دانه‌های روغنی منابع فقیری از پروتئین عبوری هستند و در بیشتر مواقع، گرما و اعمال تیمارهای شیمیایی برای بالا بردن پروتئین عبوری این منابع مؤثر واقع می‌شوند؛ اما همواره موجب تأثیر بر عملکرد حیوان نمی‌شوند (Mustafa و همکاران، ۲۰۰۰). تولید بالای حیوان نیازمند تأمین کافی اسیدهای آمینه ضروری است، بنابراین برای حمایت از نیازهای فیزیولوژیکی و تولیدی دام، استفاده از مکمل اسید-آمینه محافظت‌شده می‌تواند سودمند باشد، در این راستا تعداد زیادی از پژوهش‌ها که پاسخ عملکردی گاوهای شیری را به افزودن پروتئین به جیره موردبررسی قرار داده‌اند؛ به محتوای لیزین و متیونین جیره‌ها توجهی نکرده و فقط ازنظر مقدار پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه یا پروتئین خام جیره‌ها را متوازن کرده‌اند، این در حالی است که متیونین و لیزین محدودکننده‌ترین اسیدهای آمینه‌ها در تغذیه گاوهای شیری هستند و متیونین نقش منحصربه‌فردی را به‌عنوان اسیدآمینه آغازگر در سنتز پروتئین بازی می‌کند (Brosnan و همکاران، ۲۰۰۷). توجه به متیونین محافظت‌شده در شکمبه، به دهه ۱۹۶۰ و اوایل دهه ۱۹۷۰ برمی‌گردد، زمانی که از طریق آزمایش‌های شیردانی، روده‌ای و تزریق‌های داخل رگی مشخص شد که جذب متیونین در نشخوار-کنندگان در حد مطلوبی نمی‌باشد و این آزمایش‌ها نشان دادند که اسیدهای آمینه گوگرددار اولین محدودیت برای رشد پشم و افزایش وزن بدن در نشخوارکنندگان کوچک می‌باشند، بنابراین محققین در آزمایش‌های مختلف به دنبال کاهش تجزیه شکمبه‌ای آن‌ها بودند، که یکی از روش‌های محافظت متیونین در شکمبه، پوشاندن آن با موادی است که در برابر آنزیم‌های میکروبی مقاومت می‌کنند مانند پلیمرهایی که به تغییرات pH حساس‌اند و درحالی‌که در pH شکمبه غیرقابل‌حل می‌باشند، در pH اسیدی شیردان حل می‌شوند، همچنین آن‌ها در برابر تجزیه میکروبی شکمبه بالاترین مقاومت را داشته و به‌تدریج در محیط روده‌ای آزادشده و زیست‌فراهمی بالایی دارند، این محققین نشان داده‌اند که متیونین محافظت‌شده به-منظور تأمین اسیدآمینه محدودکننده تولید شیر می-تواند مورداستفاده قرار گیرد و در جیره‌های برپایه سیلاژ ذرت و کنجاله سویا، متیونین اغلب به‌عنوان محدودکننده‌ترین اسیدآمینه جهت تولید شیر شناخته می‌شود (Pisulewsky و همکاران، ۱۹۹۶). پژوهش‌ها

نشان داده‌اند که افزودن متیونین محافظت‌شده به چنین جیره‌هایی موجب افزایش تولید شیر (Schmidt و همکاران، ۱۹۹۹)، درصد پروتئین شیر (Berthiaume و همکاران، ۲۰۰۶) و مقدار آن (Armentano و همکاران، ۱۹۹۷) می‌شود. متیونین محافظت‌شده همچنین می‌تواند تغذیه جیره‌های با سطوح پایین پروتئین خام را با حفظ سطح تولید شیر ممکن سازد و از طرفی مشخص‌شده است که گاوهای شیری پر تولید به بیش از ۶۰۰-۶۵۰ گرم پروتئین در روز نیاز ندارند (Ipharraguerre و Clark، ۲۰۱۸). همچنین سال‌هاست که نقش زیان‌بار پروتئین اضافی در جیره بر راندمان تولیدمثلی به اثبات رسیده است؛ این تأثیر منفی می‌تواند در اثر افزایش نیتروژن اوره‌ای خون و درنتیجه کاهش pH محیط رحم اتفاق بیافتد (Butler، ۱۹۹۸). همچنین Ghorbani و همکاران، (۲۰۰۷) نشان دادند که، افزودن متیونین محافظت‌شده به جیره در شرایط تنش گرمایی موجب بهبود نرخ آبستنی و بروز فحلی می‌گردد، اما در آن مطالعه سطح پروتئین جیره کاهش پیدا نکرد. بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده، تغذیه متیونین محافظت‌شده موجب افزایش تولید شیر و پروتئین شیر در بزهای شیری می‌شود، همچنین افزایش میزان مصرف آن، تولید چربی شیر را نیز افزایش می‌دهد (Flores و همکاران، ۲۰۰۹). این مطالعه به‌منظور ارزیابی تجزیه‌پذیری متیونین محافظت‌شده و بررسی اثرات آن بر فراسنجه‌های خونی، تولید و ترکیبات شیر در بزهای شیری آلپاین انجام شد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر در قالب دو مرحله انجام شد، طی مرحله اول آزمایش که در مزرعه پژوهشی دانشگاه تهران انجام شد؛ قابلیت هضم شکمبه‌ای و پساشکمبه‌ای متیونین محافظت‌شده با چربی پریل ومتیونین محافظت نشده اندازه‌گیری شده و در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ تکرار در هرتیمار مورد مقایسه قرار گرفت. برای سنتز متیونین محافظت‌شده، مقداری متیونین تجاری خریداری شد و با استفاده از روش کپسوله‌سازی با چربی پریل به شکل محافظت‌شده درآمد (Karimi و همکاران، ۲۰۲۲). برای اندازه‌گیری تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای ۵ گرم از محصول در کیسه‌های نایلونی ۲۰×۱۰ سانتی‌متری با اندازه منافذ ۵۰ میکرون قرار داده شد. ۲۰ کیسه از محصول داخل محیط شکمبه گاوهای فیستولادار به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شده، سپس تمام کیسه‌ها خارج‌شده و برای متوقف ساختن فعالیت میکروبی با آب سرد شست‌وشو داده شدند. کیسه‌ها در آون ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. جهت تعیین قابلیت هضم پساشکمبه‌ای، ۸۰۰ میلی‌گرم از باقی‌مانده ترکیب، پس از انکوباسیون شکمبه‌ای داخل کیسه‌های نایلونی ۱۰×۵ توزین شد و در محلول پپسین-هیدروکلراید به‌منظور شبیه‌سازی شرایط روده به‌مدت ۲ ساعت در حمام آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند، و به‌مدت ۱۶ ساعت در محیط شبیه‌سازی‌شده با روده قرار گرفتند و پس‌ازآن با آب سرد شست‌وشو داده‌شده، سپس در آون خشک‌شده و توزین شدند.

مرحله دوم پژوهش حاضر در شرکت سپیدان واقع در قرچک انجام گرفت. این محل دارای سالن‌هایی با شرایط تهویه مناسب و یکسان بود و همه بزها در طول دوره آزمایش به آب با کیفیت مطلوب دسترسی داشتند. ۴۵ رأس بز شیرده آلپاین با محدوده وزنی ۶۵-۵۰ کیلوگرم و محدوده سنی ۳۶-۲۴ ماه با روزهای شیردهی ۲۰۰ به‌صورت تصادفی و به مدت ۴ هفته به سه تیمار آزمایشی شامل: شاهد (جیره پایه بدون متیونین محافظت‌شده)، جیره پایه به‌علاوه ۲/۵ گرم متیونین محافظت‌شده تجاری، جیره

پایه به‌علاوه ۲/۵ گرم (Flores و همکاران، ۲۰۰۹) متیونین محافظت‌شده ساخته‌شده داخل آزمایشگاه اختصاص یافتند که دو هفته اول به‌عنوان دوره عادت دهی در نظر گرفته شد و در دو هفته دوم نمونه-برداری انجام شد. خوراک سه وعده در روز و در ساعت ۸ صبح، ۱ بعدازظهر و ۸ شب توزیع شد و ازآنجاکه ۱۰۰ گرم از کنسانتره دام‌ها روزانه در هنگام شیردوشی نوبت صبح توزیع می‌شد مقدار ۲/۵ گرم از متیونین محافظت‌شده به همراه سبوس در قالب بسته‌های ۳۰ گرمی و به‌صورت انفرادی نیز به بزها خورانده می‌شد. شیردوشی روزانه در دو نوبت و در ساعت ۷ صبح و ۷ عصر انجام شد و تولید شیر در طول هفته آخر ثبت و نمونه‌برداری از شیر جهت تعیین ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین و لاکتوز به مدت دو روز انجام شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره بزهای شیری آلپاین

Table 1. Ingredients and chemical composition of Alpine dairy goats diet

ماده خوراکی (Ingredients)	درصد از ماده خشک (%DM)	ماده خوراکی (Ingredients)	درصد ماده خشک (%DM)
یونجه (Alfalfa)	32.00	سبوس گندم (Wheat bran)	5.10
کاه گندم (Wheat straw)	8.00	بنتونیت (Bentonite)	0.48
دانه ذرت (Corn)	21.16	مایکوزورب (Mycosorb)	0.12
دانه جو (Barley)	8.10	مکمل ویتامینی و معدنی[1] (Vitamin and mineral premix)	1.00
دانه گندم (Wheat)	1.20	جوش شیرین (Sodium bicarbonate)	0.90
کجاله کلزا (Canola meal)	9.00	کربنات کلسیم ($CaCO_3$)	0.90
کنجاله سویا (Soybean meal)	7.80	نمک (Salt)	0.36
پودر چربی (Fat powder)	1.80	دی کلسیم فسفات (DCP)	0.30
ملاس چغندر قند (Sugar beet molasses)	1.60	اکسید منیزیم (MgO)	0.18
ترکیب شیمیایی (Chemical composition)	درصد ماده خشک (%DM)	ترکیب شیمیایی (Chemical composition)	درصد ماده خشک (%DM)
ماده خشک (DM)	89.96	خاکستر (Ash)	9.40
پروتئین خام (CP)	17.70	دیواره سلولی (NDF)	33.50
عصاره اتری (EE)	4.00	انرژی قابل متابولیسم (ME, Mcal/Kg)	2.01

۱. هر کیلوگرم مکمل معدنی و ویتامینی شامل: ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین آ، ۱۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین د، ۳۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین ای، ۴۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۵۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۲۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۵۰ میلی‌گرمید، ۶۰۰ میلی‌گرم مس و ۵۰۰۰ میلی‌گرم آهن.

1. Vit A 1000000 IU/Kg, Vit D_3 100000 IU/Kg, Vit E 3000 IU/Kg, Mn 4000 ppm, Zn 5000 ppm, Co 20 ppm, Se 30 ppm, I 50 ppm, Cu 600 ppm, Fe 5000 ppm

نمونه‌های شیر در آزمایشگاه مرکزی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران با استفاده از دستگاه میلکواسکن مدل Julie Z7 Automatic ساخت کشور آلمان آنالیز و مقدار چربی و پروتئین آن ثبت شد. برای تعیین مقدار کازئین، نمونه در حمام آب ۳۹ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده، سپس ۵ گرم از آن درون بالن کجلدال توزین شد و ۷۰ میلی‌لیتر آب ۳۸ درجه سانتی‌گراد به آن اضافه شد. سپس ۰/۷۵ میلی‌لیتر اسیداستیک به بالن کجلدال اضافه‌شده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق باقی ماند. پس‌ازآن ۰/۷۵ میلی‌لیتر محلول سدیم‌استات به بالن اضافه شد و برای مدت ۱۰ دقیقه تا حصول رسوب باقی‌ماند. مخلوط از صافی عبور داده شد و ۳۰ میلی‌لیتر محلول بافر به بالن اضافه شد و برای بار دوم از صافی جهت

حصول مایع عاری از ذرات ماده عبور داده شد. سپس کاغذ صافی درون بالن کجلدال قرار داده شد و مراحل هضم،تقطیر و تیتراسیون انجام گرفت (Lynch و همکاران، ۱۹۹۸). خون‌گیری در این مطالعه با استفاده از لوله‌های ۵ میلی‌لیتری حاوی ماده ضد انعقادی هپارین قبل از مصرف خوراک از محل سیاهرگ وداج به‌منظور سنجش گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید، پروتئین کل، اوره و آلبومین خون صورت پذیرفت (Thomas ، ۱۹۹۸). جداسازی پلاسما با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار مدل CENTRIC 260R در ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. سپس نمونه‌های پلاسما داخل میکروتیوب ۱/۵ تا قبل از اندازه‌گیری فراسنجه‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، نسخه ۹/۱ و مدل آماری زیر در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند.

$$Y_{ijk}=\mu+A_i+T_j+ (AT)_{ij} +e_{ijk}$$

که در مدل فوق، Y_{ijk}: مقدار مشاهده مربوط به هر صفت، μ: میانگین کل مشاهدات برای هر صفت، A_i: اثر تصادفی حیوان، T_j: اثر ثابت تیمار، $(AT)_{ij}$: اثر متقابل حیوان و تیمار و e_{ijk}: اثر اشتباه آزمایشی می‌باشند.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به قابلیت هضم و تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای منابع متیونین در جدول (۲) گزارش‌شده است، همان‌طور که مشاهده می‌شود، تجزیه‌پذیری متیونین محافظت‌شده در شکمبه نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد($P <$ ۰/۰۰۱). همچنین قابلیت هضم پسا شکمبه‌ای متیونین محافظت‌شده ۵۲/۲۳ درصد و قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش ۸۷/۹۷ درصد گزارش شد. Karimi و همکاران (۲۰۲۲) مشاهده کردند که قابلیت هضم منابع پروتئینی محافظت‌شده در شکمبه به‌طور معنی‌داری کاهش‌یافته، و قابلیت هضم روده‌ای افزایش می‌یابد، همچنین این پژوهشگران مشاهده کردند که قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش تفاوت معنی‌داری نداشت که نشانگر انتقال محل هضم از شکمبه به روده می‌باشد، در این تحقیق کمترین مقدار آزادسازی نیتروژن شکمبه‌ای برای متیونین پوشش داده‌شده با پلیمر حساس به pH مشاهده شد. درمورد اسیدهای آمینه پوشش داده‌شده با چربی، در مطالعه‌ای مشاهده شد که پوشش‌دار کردن اسیدآمینه با چربی اشباع و تری گلیسیریدها نسبت به صابون‌های کلسیمی اسیدهای چرب موجب آزادسازی مقدار کمتری نیتروژن می‌شود؛ که این مشاهده می‌تواند به این دلیل باشد که تری گلیسیریدها و چربی‌های اشباع نسبت به صابون‌های کلسیمی اسیدهای چرب خاصیت آب‌گریزی بیشتری دارند لذا با توجه به محیط آبی شکمبه و با توجه به ضعف باکتری‌ها در تجزیه چربی، عبور از شکمبه تسهیل شده و محتوای آن‌ها به روده باریک جهت جذب می‌رسد (Rossi و همکاران، ۲۰۰۲). Bach و Stern (۲۰۰۰) نیز گزارش نمودند که هرچه نرخ تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای کمتر باشد، رسیدن به حداکثر غلظت متیونین در پلاسما دیرتر رخ خواهد داد و غلظت متیونین پلاسما می‌تواند برای پیش‌بینی قابلیت دسترسی متیونین محافظت‌شده مورداستفاده قرار گیرد. در ضمن چربی پریل حاوی مخلوطی از اسیدهای چرب اشباع (به‌صورت تری‌گلیسرید) به‌صورت مایع است که تحت‌فشار و در دمای پایین بروی محصول موردنظر اسپری می‌شوند، که منجر به تشکیل پوششی از دانه‌های خشک و سخت چربی می‌شود، این پوشش در شکمبه بی‌اثر بوده و تخمیر شکمبه‌ای را تحت تأثیر قرار نمی‌دهند و کمتر نیز تحت تأثیر نیز قرار می‌گیرد، بلکه در روده تحت تأثیر آنزیم لیپاز قرارگرفته و تجزیه می‌شود (Sharma و همکاران، ۲۰۱۶).

جدول ۲- مقایسه تجزیه‌پذیری ماده خشک متیونین محافظت‌شده و شاهد

Table 2. Comparing degradability of rumen protected methionine and control

متغیر (Parameter)	تیمارهای آزمایشی		SEM	P-value
	متیونین محافظت نشده (unprotected methionine)	متیونین محافظت شده (Rumen-protected methionine)		
قابلیت تجزیه پذیری شکمبه‌ای (Ruminal degradability) (٪)	100.00[a]	72.38[b]	2.08	<0.001
قابلیت هضم پسا شکمبه‌ای (Post-ruminal digestibility) (٪)	-	52.23	2.08	<0.001
قابلیت هضم در کل دستگاه گوارش (Total digestibility) (٪)	-	87.97	2.08	<0.001

میانگین‌هایی که دارای حروف انگلیسی متفاوت در هر ردیف هستند دارای تفاوت معنی‌دار در سطح $P<0.05$ می‌باشند.

Means with different superscripts differ significantly (P<0.05).

نتایج مربوط به تولید و ترکیبات شیر در جدول (۳) نشان داده‌شده‌اند، همان‌طور که مشخص‌شده است اثر تیمارهای آزمایشی بر تولید و همچنین ترکیبات شیر شامل چربی، پروتئین، لاکتوز، کازئین و کل مواد جامد معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). مصرف زیاد پروتئین خام و پروتئین قابل‌تجزیه در شکمبه ممکن است سنتز آمونیاک شکمبه‌ای و پروتئین میکروبی را افزایش دهد و اثر بالقوه متیونین محافظت‌شده بر پروتئین شیر کاهش پیدا کند، افزون بر این معده و کبد ممکن است بخش زیادی از اسیدآمینه منابع سرخرگی را اکسید نمایند، درنتیجه ممکن است اختلاف زیادی بین پروفایل اسیدآمینه‌ای که انتظار می‌رود به دوازدهه برسد، مقدار حقیقی، پروفایل اسیدآمینه که به ورید کبدی رسیده و پروفایل اسیدآمینه در دسترس بافت‌های محیطی وجود داشته باشد (Berthiaume و همکاران، ۲۰۰۶). همچنین در مورد درصد کازئین شیر نیز در مطالعه‌ای مشاهده شد که درصد کازئین شیر تحت تأثیر مکمل متیونین محافظت‌شده قرار نمی‌گیرد که این عدم معنی‌داری به دلیل تأثیر تولید شیر بر ترشح کازئین می‌باشد (AL-Qaisi و Titi، ۲۰۱۴). مطابق با یافته‌های این تحقیق در مطالعه Tsiblakou و همکاران، (۲۰۱۷) نیز مشاهده شد که افزودن روزانه ۲/۷۵ گرم متیونین محافظت‌شده به جیره میش‌های شیرده تأثیر معنی‌داری بر تولید شیر ندارد ، همچنانکه AL-Qaisi و Titi (۲۰۱۴) مشاهده کردند که افزودن روزانه ۵ گرم متیونین محافظت‌شده اثر معنی‌داری بر تولید شیر بز-های شیری نیز ندارد. درحالی‌که در مطالعه‌ای نشان داده شد که افزودن ۲/۴ گرم متیونین محافظت‌شده موجب افزایش معنی‌دار تولید شیر در میش‌ها می‌شود (Papadomichelakis و همکاران، ۲۰۰۲). همچنین Poljicak-milasو Marenjak، (۲۰۰۷) مشاهده کردند که افزودن روزانه ۵ گرم متیونین محافظت‌شده به جیره بزهای شیرده موجب افزایش تولید شیر می‌شود. عدم تأثیر متیونین محافظت‌شده بر تولید شیر در مطالعه حاضر می‌تواند نشانگر این باشد که متیونین برای حیوان اسیدآمینه محدودکننده نبوده است، همچنانکه پاسخ‌های متضاد در آزمایشات مختلف نشانگر این است که تأثیر متیونین محافظت‌شده بر تولید شیر وابسته میزان محدودکنندگی متیونین بر مبنای شرایط جیره است، که شامل مواردی همچون زیاد بود اسیدآمینه و عدم تعادل مناسب اسیدهای

آمینه می‌باشد (Lara و همکاران، ۲۰۰۶). عدم تأثیر میتونین محافظت‌شده بر درصد چربی شیر در این تحقیق می‌تواند به این دلیل باشد که متیونین یکی از پیش‌سازهای کارنتین بوده که نقش آن انتقال اسید-های چرب به میتوکندری جهت اکسیداسیون و تولید انرژی می‌باشد، بنابراین تصور می‌شود که متیونین تأمین‌شده از محل میتونین محافظت‌شده با توجه به نیازهای بالای انرژی حیوانات پرتولید اسیدهای چرب را به سمت اکسیداسیون و نه تولید تری آسیل گلیسرول جهت سنتز چربی هدایت کند (Amaro و همکاران، ۲۰۲۲).

جدول ۳- تأثیر تیمارهای آزمایشی بر تولید و غلظت ترکیبات شیر بزهای شیری آلپاین

Table 3. Effect of rumen protected methionine on blood parameters of Alphine dairy goats

متغیر (Parameter)	تیمارهای آزمایشی Treatments			SEM	P-value
	کنترل (جیره پایه بدون متیونین محافظت‌شده) Control (Basal diet without Rumen-protected methionine)	جیره پایه + متیونین محافظت‌شده تجاری Basal diet + commercial Rumen-protected methionine	جیره پایه + متیونین محافظت‌شده سنتز شده داخل آزمایشگاه Basal diet + Rumen-protected methionine vitro synthesized in		
تولید شیر (Milk production) (Kg/d)	2.47	2.43	2.56	0.32	0.36
چربی شیر (Milk fat) (%)	5.83	5.80	5.60	0.52	0.36
پروتئین شیر (Milk protein) (%)	3.45	3.58	3.44	0.29	0.60
لاکتوز شیر (Milk lactose) (%)	5.20	5.23	5.07	0.38	0.37
کل مواد جامد شیر (Total milk solids) (%)	9.10	9.24	9.08	0.42	0.49
کازئین شیر (Milk casein) (%)	3.09	2.98	2.83	0.63	0.70

نتایج مربوط به غلظت فراسنجه‌های خونی در جدول (۴) نمایش داده‌شده است، همان‌طور که مشاهده می‌شود غلظت گلوکز، آلبومین تری‌گلیسیرید، کلسترول و پروتئین کل در پلاسما در این مطالعه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). مطابق با یافته‌های این تحقیق، Li و همکاران، (۲۰۲۲) نیز نشان دادند که اضافه کردن روزانه ۱/۵ گرم میتونین محافظت‌شده به جیره بزهای شیری تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوکز، تری‌گلیسیرید و کلسترول پلاسما ندارد. همچنین در مطالعه‌ای که بر روی بره-های سه ماهه به مدت ۹۰ روز انجام گرفت مشاهده شد که اضافه کردن ۰/۸ درصد ماده خشک متیونین محافظت‌شده در جیره تأثیری بر غلظت کلسترول و همچنین تری‌گلیسیرید پلاسما ندارد (Zhang و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین Li وهمکاران، (۲۰۲۲) مشاهده کردند که افزودن ۱۵ گرم متیونین

محافظت‌شده به جیره گاوهای شیری هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری بر غلظت پروتئین کل و آلبومین پلاسما ندارد، به‌علاوه اینکه بسته به شرایط متابولیکی حیوان ممکن است مقدار قابل‌توجهی از متیونین جذب‌شده که از طریق سیستم باب کبدی به کبد برده می‌شود، در مسیر تولید کارنتین جهت انتقال اسیدهای چرب به میتوکندری برای اکسیداسیون اسیدهای چرب مصرف شود (Drackley ، ۱۹۹۹).

جدول ۴- تاثیر تیمارهای آزمایشی بر غلظت فراسنجه‌های خونی بزهای شیری آلپاین

Table 4. Effect of rumen protected methionine on blood parameters of Alphine dairy goats

P-value	SEM	تیمارهای آزمایشی Treatments: جیره پایه + متیونین محافظت‌شده سنتز شده داخل آزمایشگاه Basal diet + Rumen-protected methionine vitro synthesized in	جیره پایه + متیونین محافظت‌شده تجاری Basal diet + commercial Rumen-protected methionine	کنترل (جیره پایه بدون متیونین محافظت‌شده) Control (basal diet without Rumen-protected methionine)	متغیر (Parameter)
0.30	15.10	66.00	67.00	61.00	گلوکز (Glucose) (mg/dl)
0.49	0.39	3.54	3.58	3.70	آلبومین (Albumin) (g/dl)
0.30	48.30	125.30	116.80	139.40	کلسترول(Cholesterol) (mg/dl)
0.57	4.28	19.04	17.26	17.20	تری‌گلیسیرید (Triglyceride) (mg/dl)
0.61	0.53	7.76	7.62	7.82	پروتئین کل(Total protein) (g/dl)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از چربی پریل، شامل مخلوطی از اسیدهای چرب اشباع، به‌عنوان پوشش محافظ در برابر تجزیه باکتریایی، می‌تواند در کاهش تجزیه‌پذیری منابع پروتئینی باارزش، و اسیدهای آمینه محدودکننده همچون متیونین در شکمبه حیوانات پر تولید که نیاز پروتئینی آن‌ها از میزان تأمین‌شده توسط جمعیت میکروبی شکمبه بیشتر است مؤثر واقع شود.

منابع

Al-Qaisi, M.A. and Titi, H.H. 2014. Effect of rumen-protected methionine on production and composition of early lactating Shami goats milk and growth performance of their kids. Archives Animal Breeding, 57: 1-11.

Amaro, F.X., Kim, D., Restelatto, R., Carvalho, P., Arriola, K., Duvalsaint, E.J.C. and Vyas, D. 2022. Lactational performance of dairy cows in response to supplementing N-acetyl-l-methionine as source of rumen-protected methionine. Journal of Dairy Science, 105: 2301-2314.

Bach, A. and Stern, M.D. 2000. Measuring resistance to ruminal degradation and bioavailability of ruminally protected methionine. Animal Feed Science and Technology, 84: 23-32.

Berthiaume, R., Thivierge, M. C., Patton, R. A., Dubreuil, P., Stevenson, M., McBride, B. W. and Lapierre, H. 2006. Effect of ruminally protected methionine on splanchnic metabolism of amino acids in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 89: 1621-1634.

Brosnan, J.T., Brosnan, M.E., Bertolo, R.F. and Brunton, J.A. 2007. Methionine: a metabolically unique amino acid. Livestock Science, 112: 2-7.

Butler, W. R. 1998. Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. Journal of Dairy Science, 81: 2533-2539.

Drackley, J. K., James K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier." Journal of Dairy Science ,82: 2259-2273.

Flores, A., Mendoza, G., Pinos-Rodriguez, J. M., Plata, F., Vega, S. and Bárcena, R. 2009. Effects of rumen-protected methionine on milk production of dairy goats. Italian Journal of Animal Science, 8: 271-275.

Ghorbani, G. R., Kianzad, D., Alikhani, M. and Nikkhah, A. 2007. Rumen-protected methionine improves early-lactation performance of dairy cattle under high ambient temperatures. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances, 2: 184-195.

Haddad, S. G., Mahmoud, K. Z. and Talfaha, H. A. 2005. Effect of varying levels of dietary undegradable protein on nutrient intake, digestibility and growth performance of Awassi lambs fed on high wheat straw diets. Small Ruminant Research, 58: 231-236.

Ipharraguerre, I. R. and Clark, J. H. 2005. Varying protein and starch in the diet of dairy cows. II. Effects on performance and nitrogen utilization for milk production. Journal of Dairy Science, 88: 2556-2570.

Karimi, M., Ganjkhanlou, M., Zali, A., Parnian-khajehdizaj, F., Karimi-Azandariyani, S., Fatehi, F. and Khanaki, H. 2022. Encapsulation of soybean meal and barley grain with calcium soap of sunflower fatty acids: Effects on growth performance and carcass characteristics in Mahabadi kids. Small Ruminant Research, 215: 106764.

Kröber, T. F., Kreuzer, M., Senn, M., Langhans, W. and Sutter, F. 2000. Effects of rumen- protected methionine in a low protein ration on metabolic traits and performance of early lactating cows as opposed to rations with elevated crude protein content. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 84: 148-164.

Lara, A., Mendoza, G. D., Landois, L., Barcena, R., Sánchez-Torres, M. T., Rojo, R. and Vega, S. 2006. Milk production in Holstein cows supplemented with different levels of ruminally protected methionine. Livestock Science, 105: 105-108.

Li, L. I., Xinyi, L. A. N., Hao, L. I. N. G., Jintao, Q. U., JIANG, Q., Shengguo, T. A. N. G. and Zhang, P. 2022. Effects of supplementation with rumen-protected methionine on milk performance, plasma biochemical indices and amino acid concentration in dairy goats' subject to heat stress. Kafkas university faculty of veterinary Journal, 28: 401-411

Li, Y., Wei, J., Dou, M., Liu, S., Yan, B., Li, C. and Xiao, J. 2022. Effects of rumen-protected methionine supplementation on production performance, apparent digestibility, blood parameters, and ruminal fermentation of lactating Holstein dairy cows. Frontiers in Veterinary Science, 9: 1101-1109

Lynch, J. M., Barbano, D. M. and Fleming, J. R. 1998. Indirect and direct determination of the casein content of milk by Kjeldahl nitrogen analysis: collaborative study. Journal of AOAC International, 81: 763-774.

Mustafa, A. F., McKinnon, J. J. and Christensen, D. A. 2000. Protection of canola (low glucosinolate rapeseed) meal and seed protein from ruminal degradation-review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 13: 535-542.

Papadomichelakis, G., Koutsotolis, K., Zabeli, G. and Zervas, G. 2002. The effect of lactating dairy ewes' diet supplementation with ALIMET (liquid methionine) on milk yield and milk composition. Italian Journal of Animal Science, 1: 301-305.

Pisulewski, P. M., Rulquin, H., Peyraud, J. L. and Verite, R. 1996. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. Journal of Dairy Science, 79: 1781-1791.

Poljičak-Milas, N. I. N. A. and Marenjak, T. S. 2007. Dietary supplement of the rumen protected methionine and milk yield in dairy goats. Archives Animal Breeding, 503: 273-278.

Rossi, F., Maurizio, M., Francesco, M., Giovanna, C. and Gianfranco, P. 2003. Rumen degradation and intestinal digestibility of rumen protected amino acids: comparison between *in situ* and *in vitro* data. Animal Feed Science and Technology, 108: 223-229.

Rostami, A., Azizi O., Jahani-Azizabadi H. 2018. The effect of redusing diet protein level and supplementing rumen protected lysine and methionine on performance in early lactation Holstein dairy cows. Journal of Ruminant Research, 6: 43-60

Santos, F. A. P., Santos, J. E. P., Theurer, C. B. and Huber, J. T. 1998. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. Journal of Dairy Science, 81: 3182-3213.

Sharma, S., Singh, M., Roy, A. K. and Thakur, S. 2016. Effect of pre-partum prilled fat supplementation on feed intake, energy balance and milk production in Murrah buffaloes. Veterinary World, 9: 256.

Sipőcz, P., Schmidt, J., Sipőcz, J. and Cenkvári, É. 1999. Use of protected methionine (Mepron M 85) in cattle. Acta Veterinaria Hungarica, 47: 409-418.

Thomas, L. (Ed.). 1998. Clinical laboratory diagnostics: use and assessment of clinical laboratory results. TH-books Verlagsgesellschaft; p. 136-46

Tsiplakou, E., Mavrommatis, A., Kalogeropoulos, T., Chatzikonstantinou, M., Koutsouli, P., Sotirakoglou, K. and Zervas, G. 2017. The effect of dietary supplementation with rumen- protected methionine alone or in combination with rumen- protected choline and betaine on sheep milk and antioxidant capacity. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 101: 1004-1013.

Zhang, J. H., Li, H. H., Zhang, G. J., Zhang, Y. H., Liu, B., Huang, S. and Zhong, R. Z. 2022. Supplementation of guanidinoacetic acid and rumen-protected methionine increased growth performance and meat quality of Tan lambs. Animal Bioscience, 35: 1556-1565.