

***In vitro* effect of different potential buffers on the fate of nitrogen of diets containing various forage to concentrate**

**Zahra Asadollahi Seyed Abadi<sup>1</sup>, Mohsen Danesh Mesgaran<sup>2\*</sup>,  
Seyed Alireza Vakili<sup>2</sup>, Abdolmansour Tahmasbi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Ph.D. student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

<sup>2</sup>Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran,

Email: danesh@um.ac.ir

**Article Info**

**Article type:**  
Research Full Paper

**Article history:**  
Received: 05/09/2022  
Revised: 07/08/2022  
Accepted: 07/09/2022

**Keywords:**  
Buffer  
Buffering capacity  
Microbial protein synthesis  
Ruminal pH

**ABSTRACT**

**Background and Objectives:** In order to increase efficiency and productivity, the need to use high-energy concentrate in dairy cows' rations seems to be essential. This type of feed increases the risk of subacute ruminal acidosis, which leads to reduced dry matter intake, milk production, and fat content. Therefore, different types of buffers are used to reduce the above consequences. Most buffers used in livestock farms include sodium carbonate, potassium bicarbonate, potassium carbonate, potassium bicarbonate, magnesium oxide, magnesium carbonate, and bentonite. Scientific reports on rations containing buffers have a significant effect on fermentation parameters such as volume of gas production, potential, and consistent rate of gas production.

**Materials and Methods:** In this study, three types of rations for dairy cows composed of 50:50, 40:60, and 30:70 forage to concentrate ratios and 4 types of buffers and alkalizer including sodium bicarbonate, sodium carbonate, potassium carbonate, and magnesium carbonate were examined using *in vitro* technique. The sequence of this experiment included determining the initial pH, buffering capacity, and buffering value index, determining the effect of buffers on the rate of fermentation parameters, microbial production, and utilizable crude protein at the duodenum of different diets in terms of forage to concentrate ratios.

**Results:** The results of this experiment showed that the highest acidogenicity value was related to the treatment of low forage rations containing sodium bicarbonate buffer, which was significantly different from the control treatment. The rate of microbial protein production, in the gas technique, indicated that the highest amount of microbial protein was produced in the low-forage ration containing sodium bicarbonate buffer. In the microbial protein production experiment, it could be used in the small intestine. The highest amount of protein that could be used in the small intestine at eight and Twenty-four hours was related to the treatment of low forage feed containing sodium bicarbonate buffer.

**Conclusion:** The results of treatments indicated that the buffering capacity of sodium carbonate, potassium carbonate, and magnesium carbonate was significantly higher than sodium bicarbonate. The use of sodium bicarbonate and potassium carbonate buffers in low-forage diets increase gas production and production of microbial protein. It seems that among the evaluated compounds, sodium bicarbonate and potassium carbonate have the best effect on the production of microbial protein and utilizable

---

crude protein at the duodenum in different diets in terms of the ratio of forage to concentrate.

---

Cite this article: Asadollahi Seyed Abadi, Z., Danesh Mesgaran, M., Vakili, S.A.R., Tahmasbi, A.M. (2022). *In vitro* effect of different potential buffers on the fate of nitrogen of diets containing various forage to concentrate. *Journal of Ruminant Research*, 10 (4), 53-70.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejrr.2022.20182.1847

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---

## تأثیر ترکیبات متفاوت با ویژگی بافری بر سرنوشت نیتروژن جیره‌های با نسبت‌های متفاوت علوفه به مواد متراکم در شرایط برون تنی

زهرا اسدالهی سیدآبادی<sup>۱</sup>، محسن دانش مسگران<sup>۲\*</sup>، سیدعلیرضا وکیلی<sup>۲</sup>، عبدالمنصور طهماسبی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

<sup>۲</sup>استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، رایانامه: danesh@um.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی - پژوهشی	<b>سابقه و هدف:</b> به منظور افزایش بهره‌وری، استفاده از مواد متراکم با انرژی بالا در جیره دام‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد. این نوع خوراک احتمال بروز اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای را افزایش داده که منجر به کاهش مصرف ماده خشک، میزان تولید و چربی شیر می‌شود. از این رو برای کاهش پیامدهای فوق، از انواع متفاوتی از بافرها استفاده می‌شود. از جمله بافرهای رایج مورد استفاده در مزارع دام‌پروری می‌توان به کربنات سدیم، بی‌کربنات سدیم، کربنات پتاسیم، بی‌کربنات پتاسیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و بتونیت اشاره نمود. نتایج آزمایش‌های متعددی که بر روی بافرها صورت گرفته است، نشان دادند ظرفیت بافری خوراک‌هایی که تحت آزمایش کشت تولید گاز قرار می‌گیرند، می‌توانند پتانسیل تخمیرپذیری را از طریق تغییر در حجم، پتانسیل و ثابت نرخ گاز تولیدی تحت تأثیر قرار دهد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۲/۱۹ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۴/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۱۸	
<b>واژه‌های کلیدی:</b> ارزش بافری بافر سنتز پروتئین میکروبی pH شکمبه	<b>مواد و روش‌ها:</b> در این پژوهش به روش برون تنی ۳ نوع جیره برای گاوهای شیرده با نسبت‌های ۵۰:۵۰، ۶۰:۴۰ و ۷۰:۳۰ علوفه به مواد متراکم و ۴ نوع ترکیب بافر شامل بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم استفاده شد. مراحل انجام این آزمایش شامل تعیین pH اولیه، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری، تعیین اثر بافرها بر میزان فراسنجه‌های تخمیرپذیری (شامل فراسنجه تولید گاز از بخش دارای پتانسیل تخمیر، فراسنجه ثابت نرخ تولید گاز و نیمه عمر تولید گاز)، تولید پروتئین میکروبی و تولید پروتئین قابل استفاده در روده باریک جیره‌های متفاوت به لحاظ نسبت علوفه به مواد متراکم بود.
	<b>یافته‌ها:</b> نتایج این آزمایش نشان داد بیشترین میزان ارزش اسیدزایی مربوط به تیمار جیره کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم بوده است که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). همچنین نتایج آزمایش تولید گاز نشان داد که در آزمایش تولید پروتئین میکروبی شکمبه، بیشترین میزان پروتئین میکروبی تولیدشده در بین تیمارها، متعلق به تیمار جیره کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم می‌باشد. بیشترین میزان پروتئین قابل استفاده در روده باریک در زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت مربوط به تیمار خوراک کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم بوده است.
	<b>نتیجه‌گیری:</b> نتایج این آزمایش نشان داد که ظرفیت بافری کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم به طور معنی‌داری بیشتر از بی‌کربنات سدیم است. استفاده از بافر بی‌کربنات سدیم و کربنات پتاسیم در جیره کم علوفه باعث افزایش تولید گاز و افزایش پروتئین میکروبی می‌شود. به نظر می‌رسد که در بین ترکیبات مورد ارزیابی بی‌کربنات سدیم و کربنات پتاسیم دارای بهترین تأثیر بر تولید پروتئین میکروبی و

---

پروتئین قابل استفاده در روده باریک در جیره‌های مختلف از نظر نسبت علوفه به مواد متراکم باشد.

---

استناد: اسدالهی سیدآبادی، ز.، دانش مسگران، م.، وکیلی، س.ع.ر.، طهماسبی، ع.م. (۱۴۰۱). تاثیر ترکیبات متفاوت با ویژگی بافری بر سرنوشت نیتروژن جیره‌های با نسبت‌های متفاوت علوفه به مواد متراکم در شرایط برون تنی. پژوهش در نشخوارکنندگان، ۱۰ (۴)، ۷۰-۵۳.

DOI: 10.22069/ejrr.2022.20182.1847

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان



© نویسندگان.

## مقدمه

اقلام خوراکی مورد استفاده در گاوهای شیرده شامل علوفه و مواد متراکم هستند. قسمت اعظم مواد متراکم را غلات، منابع پروتئینی و ضایعات یا محصولات فرعی کشاورزی تشکیل می‌دهند که دارای الیاف کم و انرژی قابل هضم بیشتری می‌باشند (Mesgaran و همکاران، ۲۰۱۷). امروزه برنامه‌های تغذیه‌ای و مدیریتی طوری طراحی می‌شوند که بیشترین بازدهی را در نشخوارکنندگان به همراه داشته باشند. در نشخوارکنندگان به منظور افزایش تولید شیر اغلب نیاز به استفاده از مواد متراکم با کربوهیدرات‌های سریع التخمیر با انرژی بالا می‌باشد (Plaizier و همکاران، ۲۰۱۸). از سوی دیگر تغذیه زیاد مواد متراکم در گاوهای شیرده باعث کاهش pH شکمبه و بروز اسیدوز خواهد شد (Lean و همکاران، ۲۰۱۴، Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). به همین دلیل استفاده از بافر یا مواد قلپا کننده می‌تواند برای تخمیر و تنظیم pH شکمبه مفید باشد (Counotte و همکاران، ۱۹۷۹، Harrison و همکاران، ۲۰۱۲ و Santra و همکاران، ۲۰۰۳). از جمله بافرها می‌توان به اکسید منیزیم، بی‌کربنات پتاسیم و کربنات سدیم اشاره نمود (Jasaitis و همکاران، ۱۹۸۷، Menke، ۱۹۸۸). Alfonso-Avila و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کربنات پتاسیم به عنوان بافر محیط شکمبه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، هر چند که متغیر و غیرقابل پیش‌بینی بودن پاسخ به بافرها احتمالاً به دلیل تفاوت در تخمیرپذیری خوراک است (Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). مطالعات قبلی نشان دادند که بازدهی خوراک در گاوهای شیرده با استفاده از مکمل کربنات پتاسیم و مکمل سسکوئی کربنات پتاسیم بهبود می‌یابد (Golder و همکاران، ۲۰۱۴، Jafarpour و همکاران، ۲۰۱۶). نقش ظرفیت بافری جیره در pH مایع شکمبه و همچنین اثر کلی تخمیر و هضم خوراک از جمله عوامل مهم بر خشتی بودن

تعادل اسید-باز در نشخوارکنندگان می‌باشد (Grings و همکاران، ۲۰۰۵). تولید پروتئین میکروبی در حیوانات نشخوارکننده اهمیت زیادی دارد، زیرا پروتئین میکروبی تولیدشده در شکمبه، نیمی از کل اسیدهای آمینه مورد نیاز گاوهای شیرده را که وابسته به غلظت پروتئین خام موجود در جیره است، فراهم می‌کند (Edmunds و همکاران، ۲۰۱۲). عواملی از قبیل غلظت و منبع نیتروژن، نرخ تجزیه نیتروژن و کربوهیدرات، نسبت علوفه به مواد متراکم در جیره، مصرف ماده خشک و هم‌زمانی آزادسازی انرژی و نیتروژن، تولید پروتئین میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پروتئینی که وارد روده باریک می‌شود شامل دو بخش پروتئین تجزیه نشده شکمبه‌ای و پروتئین میکروبی تولیدشده در شکمبه است؛ بنابراین مصرف پروتئین با تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای اندک در گاوها، مقدار پروتئین عبوری به روده باریک را افزایش می‌دهد (Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی در خصوص ظرفیت بافری بافرهای مختلف، آزمایش حاضر طراحی شد. هدف از انجام این پژوهش تعیین pH اولیه، شاخص ظرفیت بافری و ارزش بافری ترکیبات متفاوت شامل بیکربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات منیزیم و کربنات پتاسیم، تعیین اثر بافرهای موردآزمون بر میزان تولید پروتئین میکروبی و تولید پروتئین قابل استفاده در روده باریک جیره‌های متفاوت به لحاظ نسبت علوفه به مواد متراکم بود.

## مواد و روش‌ها

**بافرها و تهیه جیره‌های با نسبت متفاوت علوفه به مواد متراکم:** در این پژوهش از ۴ نوع ترکیب شیمیایی با ویژگی بافری و قلپا کننده شامل بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم استفاده شد. مقدار هر یک از کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم به گونه‌ای به محیط کشت

پروتئین خام بر اساس روش انجمن رسمی شیمی- دانان کشاورزی (۲۰۰۵)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی بر اساس روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) و خاکستر روش انجمن رسمی شیمی دانان کشاورزی (۲۰۰۵) اندازه‌گیری شد. اجزا و ترکیب شیمیایی خوراک‌های مورد آزمون (درصد ماده خشک) در جدول ۱ نشان داده شده است.

برون‌تنی اضافه شد که متوازن بی‌کربنات سدیم از نظر ظرفیت بافری باشد. ۳ نوع جیره برای گاوهای شیرده پرتولید بر اساس پیشنهاد انجمن ملی تحقیقات (۲۰۰۱) تهیه شد. جیره‌ها به‌گونه‌ای تنظیم شدند که دارای نسبت‌های مختلف علوفه به مواد متراکم شامل ۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد مواد متراکم (خوراک پرعلوفه، کنترل)، ۴۰ درصد علوفه و ۶۰ درصد مواد متراکم (خوراک میان علوفه) و ۳۰ درصد علوفه و ۷۰ درصد مواد متراکم (خوراک کم علوفه) بودند.

جدول ۱- اجزاء و ترکیب شیمیایی خوراک‌های مورد آزمایش (درصد ماده خشک)

**Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets (%DM)**

Forage: concentrate (%DM)			Ingredients	اجزاء خوراک
FC <sub>30:70</sub>	FC <sub>40:60</sub>	FC <sub>50:50</sub> <sup>1</sup>		
15.0	20.0	25.0	Corn silage	سیلاژ ذرت
15.0	20.0	25.0	Alfalfa hay	یونجه خشک
13.6	11.7	9.7	Barley grain	دانه جو
17.0	14.6	12.2	Corn grain	دانه ذرت
15.6	13.4	11.2	Wheat bran	سبوس گندم
14.5	12.5	10.4	Soybean meal	کنجاله سویا
9.3	7.8	6.5	Dried distilled wheat grain	پسماند صنایع تقطیری گندم
ترکیب شیمیایی (درصد) و انرژی خالص شیردهی (مگا کالری به کیلوگرم)				
Chemical Composition (%) and Net Energy Lactation (M cal/Kg)				
95.2	95.2	95.02	Dry matter	ماده خشک
19.9	18.3	18.0	Crude Protein	پروتئین خام
34.1	39.7	43.3	Neutral Detergent Fiber	الیاف نامحلول در شوینده خنثی
13.5	16.7	19.1	Acid Detergent Fiber	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی
5.5	5.8	6.1	Ash	خاکستر
1.74	1.70	1.62	Net Energy Lactation	انرژی خالص شیردهی

<sup>1</sup> FC<sub>50:50</sub>: high Forage(control); FC<sub>30:70</sub>:low Forage and FC<sub>40:60</sub>: medium Forage

تعیین ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری: ابتدا pH اولیه محلول (غلظت یک درصد)، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم اندازه‌گیری شد. آزمایش تعیین ظرفیت بافری مطابق روش Wohlt و Jasaitis (۱۹۸۷) انجام شد. سپس با استفاده از رابطه زیر (۱) میزان ظرفیت بافری هر یک از ترکیبات بافری محاسبه گردید:

$$\text{Capacity} = \left( \frac{\text{Antilog } 10 \text{ (-STPH)}}{\text{Antilog } 10 \text{ (SAPH)}} \right) \div \left( \frac{\text{Antilog } 10 \text{ (-STPH)}}{\text{Antilog } 10 \text{ (-STPH)}} + \frac{\text{SABC-STBC}}{\text{STBC}} \right) \times 10 + 100$$

در این رابطه:  $y =$  گاز تولیدشده در زمان  $t$ ,  $b =$  تولید گاز از بخش نامحلول قابل تخمیر،  $c =$  ثابت نرخ تولید گاز برای بخش  $b$ ,  $t =$  زمان کشت می‌باشد. نیمه عمر گاز تولیدشده ( $t_{1/2}$ ) با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$t_{1/2} = \ln 2 / c$$

در مرحله بعدی کشت تیمارهای آزمایشی با استفاده از مایع شکمبه بافاری شده که قبلاً توضیح داده شده، انجام شد. کشت مزبور در زمان  $t_{1/2}$  متوقف شده و از محیط کشت برای تعیین نیتروژن آمونیاکی نمونه برداری شد. ماده خشک باقی مانده محیط کشت برای تعیین غلظت نیتروژن و نیتروژن متصل به الیاف (NDIN) مورد ارزیابی قرار گرفت. تولید نیتروژن میکروبی در زمان  $t_{1/2}$  بر اساس رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Microbial N production at } t_{1/2} = \text{diet N} + \Delta \text{NH}_3\text{-N} - \text{NDFN at } t_{1/2}$$

در این رابطه  $\text{diet N}$ : نیتروژن جیره،  $\Delta \text{NH}_3\text{-N}$ : تغییرات نیتروژن آمونیاکی و  $\text{NDFN at } t_{1/2}$ : نیتروژن متصل به NDF در زمان  $t_{1/2}$  می‌باشد.

برای تعیین تولید پروتئین خام قابل استفاده در روده باریک از روش Edmunds و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد. حاصل ضرب نیتروژن غیر آمونیاکی در عدد  $6/25$  نشانگر میزان پروتئین خام قابل استفاده در ناحیه دوازده می‌باشد. در این روش از روش تولید گاز معمولی (HGT) Menke و steingass (۱۹۸۸) تبعیت می‌شود، با این تفاوت که در تهیهی محلول بافر از میزان کربنات هیدروژن سدیم به میزان ۲ گرم در لیتر کاسته شده و به همین میزان به کربنات آمونیوم اضافه می‌شود. این تصحیح سبب می‌شود که در فرآیند تولید مادهی آلی میکروبی، کمبود نیتروژن عامل محدودکننده نباشد. میزان پروتئین خام قابل استفاده در روده باریک با استفاده از رابطه زیر (۷) محاسبه شد:

$$u\text{CP}(\text{g/kgDM}) = [(\text{NH}_3\text{N}_{\text{blank}} + \text{N}_{\text{sample}} - \text{NH}_3\text{N}_{\text{sample}}) / \text{Weight}(\text{mg DM})] \times 6.25 \times 1000$$

که در این معادله:  $\text{pH} = \text{STPH}$  استاندارد معادل ۶،  $\text{pH} = \text{SAPH}$  اولیه محلول نمونه،  $\text{SABC} =$  ظرفیت بافاری محلول نمونه و  $\text{STBC} =$  استاندارد معادل با ۵۰ ظرفیت بافاری می‌باشد.

تعیین ارزش اسیدزایی: به منظور تعیین میزان ارزش اسیدزایی خوراک از روش Wadhwa و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. به طور خلاصه هر یک از تیمارهای آزمایشی به صورت ۲۴ ساعت در مایع شکمبه بافاری شده کشت داده شد. مایع شکمبه از ۳ رأس گاو شیرده هلشتاین شکم زایش دوم تهیه و به نسبت ۶۰:۴۰ با بزاق مصنوعی (۴۰ درصد مایع شکمبه و ۶۰ درصد بزاق مصنوعی) کشت داده شد. پس از اتمام کشت یک میلی لیتر از محیط کشت با ۵۰ میلی گرم پودر کربنات کلسیم مخلوط و سپس غلظت کلسیم با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (بیوسیستم A15) تعیین گردید. ارزش اسیدزایی با استفاده از رابطه زیر (۳) محاسبه شد.

(۳)

$$[\text{Ca concentration} \times \text{amount of the fluid (30 mL)}] / \text{sample weight (1g)} =$$

تخمین تولید پروتئین میکروبی و نیتروژن قابل استفاده در روده باریک: برای تخمین تولید پروتئین میکروبی از روش Grings و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. به طور کلی روش تولید گاز مورد استفاده برای تخمین تولید پروتئین میکروبی توسط تیمارهای آزمایشی در دو مرحله کشت با استفاده از مایع شکمبه بافاری شده انجام شد. در مرحله اول تولید پروتئین میکروبی مایع شکمبه از ۳ رأس گاو شیرده هلشتاین شکم زایش دوم تهیه و در محیط کشت (۲۵ درصد مایع شکمبه و ۷۵ درصد بزاق مصنوعی) در زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ با استفاده از دستگاه فشارسنج تعیین شد. فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از رابطه

McDonald و Ørskov (۱۹۷۹) محاسبه شد.

$$y = b(1 - e^{-ct})$$

در این معادله  $uCP$  پروتئین قابل استفاده در روده باریک می‌باشد و منظور از وزن، همان وزن نمونه‌ی خوراک است. منظور از نیتروژن نمونه هم مقدار کل نیتروژن وارد شده به محیط کشت از طریق نمونه جیره است. در این روش برای محاسبه پروتئین خام مؤثر قابل استفاده در دئودنوم نیز از رابطه زیر (۸) استفاده می‌شود:

$$\text{effective } uCP = y + a \times \ln(1/Kp) \quad (8)$$

در این معادله  $y$  و  $a$  به ترتیب عرض از مبدأ و شیب رگرسیون خطی میان لگاریتم نیری و  $Kp$  هم نرخ عبور است.

**تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها:** آنالیز آماری داده‌های این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS ۱/۹ رویه GLM صورت گرفت. در این آزمایش ۳ نوع جیره پرعلوفه (کنترل؛ با نسبت ۵۰ درصد علوفه به ۵۰ درصد مواد متراکم)، میان علوفه (با نسبت ۴۰ درصد علوفه به ۶۰ درصد مواد متراکم)، کم علوفه (با نسبت ۳۰ درصد علوفه به ۷۰ درصد مواد متراکم) و ۴ نوع بافر بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم در نظر گرفته شد (جیره حاوی نسبت علوفه به مواد متراکم با نسبت ۱:۱ بدون بافر به‌عنوان جیره کنترل در نظر گرفته شد). سپس جیره شاهد را با بقیه تیمارها با استفاده از آزمون دانت در سطح ۵ درصد آنالیز شد.

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

که در این معادله:  $Y_{ij}$  = مقدار هر مشاهده،  $\mu$  = اثر تیمار،  $e_{ij}$  = خطای آزمایشی می‌باشد.

### نتایج و بحث

**ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری:** مقدار بافر بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم و نتایج مربوط به pH اولیه محلول (غلظت یک درصد)، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری محلول‌های هر یک از ترکیب‌های شیمیایی مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۲ آمده است (بی‌کربنات سدیم به عنوان اصلی‌ترین بافر مبنای

مقایسه بافرهای کربنات سدیم، کربنات پتاسیم و کربنات منیزیم قرار گرفت). نتایج مقایسه دانت نشان داد که ظرفیت بافری کربنات سدیم به‌طور معنی‌داری بیشتر از بی‌کربنات سدیم است ( $P < 0/05$ ). شاخص ارزش بافری وابستگی مستقیم به ظرفیت بافری دارد، اما رابطه معکوس با  $H^+$  (اسیدیته) دارد. اثر بی‌کربنات سدیم بر حالت اسید-باز شکمبه کوتاه‌مدت است و در مقایسه با بزاق سهم کمتری در ظرفیت بافری کل شکمبه دارد (Zali و همکاران، ۲۰۱۹). مکمل بیکربنات سدیم باعث افزایش pH مایع شکمبه می‌شود (Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). پاسخ‌های pH شکمبه در سطوح مختلف بی‌کربنات سدیم نشان داد که افزایش ظرفیت بافری باعث افزایش pH شکمبه نمی‌شود (Hu و Murphy، ۲۰۰۵؛ Zali و همکاران، ۲۰۱۹). کاهش مقدار pH بعد از افزایش در نرخ تخمیر، به ظرفیت بافری مایع شکمبه و نوع خوراک مورد استفاده بستگی دارد (Counotte و همکاران، ۱۹۷۹؛ Jafarpour و Boroujeni و همکاران، ۲۰۱۶).

**ارزش اسیدزایی:** نتایج ارزش اسیدزایی و pH محلول پس از کشت در جدول ۳ آورده شده است. بیشترین میزان ارزش اسیدزایی مربوط به خوراک کم علوفه حاوی بافر کربنات سدیم بود ( $P < 0/01$ ). ارزش اسیدزایی مواد تشکیل‌دهنده خوراک با تغییر در pH مایع شکمبه پس از انکوباسیون ارتباط مثبت دارد و این نشان می‌دهد که خوراک با ارزش اسیدزایی بالا خطر اسیدوز در شکمبه را در گاوهای شیری نسبت به خوراک با ارزش اسیدزایی پایین افزایش می‌دهد (Jafarpour Boroujeni و همکاران، ۲۰۱۶؛ Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). کمترین میزان ارزش اسیدزایی مربوط به خوراک کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم بود ( $P < 0/01$ ). افزودن بافرهای مختلف به جیره باعث افزایش معنی‌داری در pH شکمبه می‌شود، درحالی‌که بین بافرها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (West و همکاران، ۱۹۸۷).



جدول ۲- مقدار بافر، pH اولیه محلول (غلظت ۱٪)، ظرفیت بافری (میلی اکی والان در لیتر) و شاخص ارزش بافری بافرها یا قلیاکننده‌ها

**Table 2. The amount of buffers (mg/1 g DM), initial pH of 1% solution, buffering capacity (meq/L) and buffering value index of the different buffers or alkalizers**

P-Value <sup>2</sup>	SEM <sup>1</sup>	Experimental buffers or alkalizers				پارامترها parameters
		Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Carbonate sodium	Bicarbonate sodium	
		12.4	7.4	11.5	0.8	مقدار بافر Amount of buffers (mg/1gDM)
**	0.23	8.33	9.69	10.37	7.85	pH اولیه محلول یک درصد Initial pH of 1% solution
**	4.7	223.5	132.5	205.5	143.0	ظرفیت بافری Buffering capacity (meq/L)
**	1.1	135.0	117.6	132.6	119.7	شاخص ارزش بافری Buffering value index

<sup>1</sup> SEM: خطای استاندارد میانگین:

<sup>2</sup> P-Value: سطح احتمال معنی داری:

\*: در هر ردیف، میانگین با علامت \* اختلاف معنی دار با تیمار شاهد در مقایسه دانت دارد ( $P < 0.05$ ), \*\*: در هر ردیف، میانگین با علامت \*\* اختلاف معنی دار با تیمار شاهد در مقایسه دانت ندارد ( $P < 0.01$ ), n.s: در هر ردیف، میانگین با علامت n.s معنی دار نیست.

\*: In each row, the mean with the sign \* has a significant difference with the control treatment compared to the Dante ( $P < 0.05$ ), \*\*: In each row, the mean with the sign \*\* does not differ significantly from the control treatment compared to the Dante ( $P < 0.01$ ), n.s: In each row, the mean with the n.s sign is not significant.

حاوی بافر بی کربنات سدیم و کربنات پتاسیم و خوراک میان علوفه حاوی بافر بی کربنات سدیم بود. مقایسات دانت این دو جیره با خوراک شاهد معنی دار بود. Kang و Wanapat (۲۰۱۳) و Kang و همکاران (۲۰۱۴ و ۲۰۱۵) گزارش کردند که بی کربنات سدیم می تواند pH شکمبه را افزایش دهد، بنابراین، جمعیت میکروبی، قابلیت هضم مواد مغذی و حجم تولید گاز را افزایش می دهد. بی کربنات سدیم می تواند در شرایط آزمایشگاهی بر تولید گاز اثرگذار باشد (Tucker و همکاران، ۱۹۹۲). کاهش یا افزایش pH شکمبه، رشد میکروبی های شکمبه به ویژه پروتوزوآهایی که به pH پایین شکمبه بسیار حساس هستند را مختل می کند. با کاهش pH، انرژی معمول برای تولید پروتئین های میکروبی شکمبه جهت حفظ pH خنثی در سلول های باکتریایی مصرف می شود (Uddin و همکاران، ۲۰۱۵). اضافه کردن بافر بالاتر از سطح بحرانی شکمبه باعث افزایش pH شکمبه و بهبود قابلیت هضم ماده خشک می شود (Mutsvangwa و همکاران، ۲۰۱۶).

رابطه مستقیمی بین مقدار کربوهیدرات غیرالیافی جیره و ارزش اسیدزایی وجود دارد، به طوری که با افزایش کربوهیدرات غیر الیافی جیره، ارزش اسیدزایی افزایش می یابد (Danesh Mesgaran و همکاران، ۲۰۰۹). منابع الیافی دارای ارزش اسیدزایی متوسط و منابع پروتئینی کمترین میزان ارزش اسیدزایی را دارا هستند (Rustomo و همکاران، ۲۰۰۶). با افزایش تولید اسید در نتیجه تخمیر کربوهیدرات ها، سطح pH محیط کشت کاهش می یابد (Kang و Wanapat، ۲۰۱۸). pH پایین شکمبه، جمعیت میکروبی شکمبه را از باکتری های تجزیه کننده الیاف به باکتری های تجزیه کننده نشاسته تغییر می دهد (Erdman و همکاران، ۲۰۱۱؛ Santra و همکاران، ۲۰۰۳).

پروتئین میکروبی: داده های مربوط به فراسنجه های تخمیرپذیری شامل فراسنجه تولید گاز از بخش دارای پتانسیل تخمیر، فراسنجه ثابت نرخ تولید گاز و نیمه عمر تولید گاز تیمارهای آزمایشی در جدول ۵ نشان داده شده اند. بیشترین فراسنجه تولید گاز از بخش با پتانسیل تخمیر مربوط به خوراک کم علوفه



همکاران، ۲۰۱۷). آمونیاک محصول فعالیت میکروبی شکمبه از هضم منابع تغذیه پروتئین است (Mutsvangwa و همکاران، ۲۰۱۶، Zain و همکاران، ۲۰۲۰). تغذیه با بی‌کربنات سدیم تولید پروتئین میکروبی را تحریک می‌کند که منجر به نرخ عبور بزرگ‌تر می‌شود (Erdman و همکاران، ۲۰۱۱، Moeini و همکاران، ۲۰۱۷). افزایش سطح پروتئین در جیره سطح آمونیاک را افزایش می‌دهد (Yang و همکاران، ۲۰۱۶) که نشان می‌دهد پروتئین می‌تواند توسط میکروب‌ها به شکل آمونیاک مورد استفاده قرار گیرد (Uddin و همکاران، ۲۰۱۵). بی‌کربنات سدیم در جیره باعث افزایش غلظت آمونیاک می‌شود (Uddin و همکاران، ۲۰۱۵). در حالی که دیگر محققین گزارش کردند بی‌کربنات سدیم در جیره تأثیری بر سطوح آمونیاک شکمبه در گاو شیری ندارد (Bahrami-Yekdangi و همکاران، ۲۰۱۶). با کاهش pH، انرژی معمول برای تولید پروتئین میکروبی شکمبه جهت حفظ pH خنثی توسط سلول‌های باکتریایی مصرف می‌شود (Alfonso-Avila و همکاران، ۲۰۱۷).

**نیترोजن قابل استفاده در روده باریک:** نتایج مربوط به پروتئین قابل استفاده در روده باریک (گرم بر کیلوگرم ماده خشک) و نتایج پروتئین مؤثر قابل استفاده در روده باریک (گرم بر کیلوگرم ماده خشک) مربوط به کلیه تیمارهای آزمایشی در جدول ۷ نشان داده شده است. پروتئین قابل استفاده در زمان ۸، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت در ارتباط با جیره-های آزمایشی از یک الگوی نسبت مشابهی پیروی کرد. نتایج این آزمایش نشان داد که پروتئین قابل استفاده در روده باریک پس از ۴۸ ساعت در خوراک کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم از بیش‌ترین مقدار برخوردار بود.

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های تولید پروتئین میکروبی شامل قابلیت هضم حقیقی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، نسبت نیترोजن میکروبی به نیترोजن کل و نسبت آمونیاک به کل تیمارهای آزمایشی در جدول ۶ آمده است. در بین تیمارهای آزمایشی بیش‌ترین فراسنجه قابلیت هضم حقیقی (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) مربوط به جیره کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم و خوراک میان علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم بود ( $P < 0.01$ ). مطالعات قبلی همچنین گزارش کردند که جیره با سطح پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه بالا، باعث کاهش آمونیاک می‌شود و قابلیت هضم را کاهش می‌دهد (Akhtar و Javaid، ۲۰۱۷، Bahrami-Yekdangi و همکاران، ۲۰۱۶). قابلیت هضم بالا، بازدهی نشخوارکنندگان را بهبود می‌بخشد، زیرا مواد مغذی می‌تواند به‌طور مطلوب از آن استفاده کنند (Zain و همکاران، ۲۰۲۰). افزایش پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه سطح آمونیاک را کاهش می‌دهد و یک عامل محدودکننده در فعالیت هضم میکروبی شکمبه است (Ørskov و McDonald، ۱۹۷۹). همچنین مقایسات دانت بین تیمارهای آزمایشی نشان داد که بیش‌ترین فراسنجه نسبت نیترोजن میکروبی به نیترोजن کل مربوط به خوراک کم علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم و جیره میان علوفه حاوی بافر بی‌کربنات سدیم و کربنات پتاسیم بود ( $P < 0.01$ ). افزایش سطح پروتئین قابل تجزیه در شکمبه در دسترس بودن نیترोजن برای تولید پروتئین میکروبی را افزایش می‌دهد، بنابراین فعالیت میکروب‌ها و توانایی آن‌ها در هضم خوراک افزایش می‌یابد (Javaid و همکاران، ۲۰۱۱). این نتایج مطابق سایر مطالعاتی است که افزایش هضم مواد مغذی را به دلیل افزایش فعالیت میکروبی در نتیجه افزایش پروتئین قابل تجزیه در شکمبه گزارش کردند (Alfonso-Avila و همکاران، ۲۰۱۷، Mesgaran و

جدول ۴- تاثیر برون تنی مقادیر مختلف بافرها یا قلیاکننده‌ها بر تولید گاز از بخش دارای پتانسیل تخمیر، ثابت نرخ تولید گاز و نیمه عمر تولید گاز خوراک های با مقادیر متفاوت علوفه به مواد متراکم  
**Table 4- In vitro effect of different buffers or alkalis on gas production from the fermentable fraction, gas production rate constant and half time of gas production of diets varying in forage: concentrate ratio**

P-Value <sup>2</sup>	جیره‌های آزمایشی Experimental diets										فراسنجه تولید گاز Gas production parameters			
	FC <sub>40:60</sub>			FC <sub>30:70</sub>			FC <sub>50:50</sub> <sup>3</sup>			No buffer				
	SEM <sup>1</sup>	Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Bicarbonate sodium	No buffer	Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Carbonate sodium	Bicarbonate sodium	No buffer	No buffer			
n.s	**	1.142	35.8	35.3	37.1	39.5	33.7	35.9	36.9	39.9	41.6	34.1	31.9	b <sup>4</sup> (ml 250 mg <sup>-1</sup> DM)
n.s	n.s	0.0086	0.072	0.074	0.075	0.078	0.062	0.079	0.085	0.082	0.086	0.069	0.05	ثابت نرخ تولید گاز C <sup>5</sup> (ml h <sup>-1</sup> )
n.s	n.s	**	1.121	9.7	9.1	9.1	11.3	9.3	8.9	8.9	8.2	10.3	12.9	نیمه عمر تولید گاز t <sub>1/2</sub> <sup>6</sup> (h)

<sup>1</sup> SEM: خطای استاندارد میانگین

<sup>2</sup> P-Value: سطح احتمال معنی داری: 1: All treatments versus control diet. 2: Sodium buffers versus potassium buffers. 3: Sodium + potassium buffers versus sodium buffers.

در هر ردیف، میانگین با علامت n.s معنی دار نیست. در هر ردیف، میانگین با علامت \*\* اختلاف معنی دار با تیمار شاهد در مقایسه دانت دارد (P<0.01). در هر ردیف، میانگین با علامت \* اختلاف معنی دار با تیمار شاهد در مقایسه دانت دارد (P<0.05). \*\* In each row, the mean with the n.s sign is not significant. \* does not differ significantly from the control treatment compared to the Dante (P<0.05). \*\* In each row, the mean with the n.s sign is not significant.

<sup>3</sup> FC<sub>50:50</sub>: high forage (control); FC<sub>30:70</sub>: low forage and FC<sub>40:60</sub>: medium forage

<sup>4</sup> gas production from the fermentable fraction

<sup>5</sup> gas production rate constant, <sup>6</sup> half time of gas production



جدول ۶. تاثیر برون تنی مقادیر مختلف بافرها یا قلیاکننده‌ها بر پروتئین قابل استفاده در روده باریک و پروتئین موثر قابل استفاده در روده باریک خوراکی‌های با مقادیر متفاوت علوفه به مواد متراکم

**Table 6. In vitro effect of different buffers or alkalisers on utilisable crude protein at the duodenum and effective utilisable crude protein at the duodenum of diets varying in forage: concentrate ratio**

P-Value <sup>2</sup>	SEM <sup>1</sup>	Experimental diets										Time (h)	موضوع Items			
		FC <sup>30/70</sup>			FC <sup>40/60</sup>			FC <sup>50/50</sup>			No buffer					
		Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Bicarbonate sodium	Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Bicarbonate sodium	Carbonate magnesium	Carbonate potassium	Bicarbonate sodium						
n.s	n.s	**	3.85	174.3	173.7	163.0	177.9	163.5	174.8	194.0	188.4	207.0	184.5	161.1	8	پروتئین قابل استفاده در روده باریک
n.s	n.s	**	3.70	102.5	109.5	105.3	118.3	100.6	109.0	153.2	127.1	153.6	133.5	97.5	24	uCP <sup>4</sup> (g kg <sup>-1</sup> DM
n.s	n.s	**	2.67	86.5	93.1	83.2	65.4	82.8	94.4	83.3	95.7	109.0	85.4	67.6	48	K <sub>p</sub> /h <sup>5</sup>
*	*	**	0.88	105.6	109.0	110.8	126.1	97.8	88.5	100.7	99.0	122.7	115.1	96.3	0.03	پروتئین موثر قابل استفاده در روده باریک
*	*	**	1.12	126.6	137.4	131.2	136.6	133.3	133.3	158.6	148.0	99.0	145.1	120.8	0.06	euCP <sup>6</sup> (g kg <sup>-1</sup> DM
*	*	**	1.34	146.2	155.2	149.3	162.7	149.9	149.9	182.5	170.6	100.7	168.1	142.9	0.09	

<sup>1</sup> SEM: استاندارد میانگین: خطای

<sup>2</sup> P-Value: سطح احتمال معنی داری: 1: All treatments versus control diet. 2: Sodium buffers versus potassium buffers. 3: Sodium + potassium buffers versus sodium buffers.

\*: در هر ردیف، میانگین با علامت n.s معنی دار نیست. \*\* (P<0.01): در هر ردیف، میانگین با علامت n.s معنی دار نیست. \*\*\* (P<0.001): در هر ردیف، میانگین با علامت n.s معنی دار نیست. \* has a significant difference with the control treatment compared to the Dante (P<0.05), \*\*: In each row, the mean with the sign \*\* does not differ significantly from the control treatment compared to the Dante (P<0.01), n.s: In each row, the mean with the n.s sign is not significant.

<sup>3</sup> FC<sup>50/50</sup>: high forage(control); FC<sup>30/70</sup>: low forage and FC<sup>40/60</sup>: medium forage

<sup>4</sup> Utilisable crude protein at the duodenum

<sup>5</sup> Passage rates of 0.03, 0.06 and 0.09 h<sup>-1</sup>

<sup>6</sup> Effective utilisable crude protein at the duodenum

محیط می‌گردد که شرایط مساعدتری برای رشد میکروب‌های شکمبه فراهم کرده، در نتیجه بازدهی استفاده از نیتروژن جهت تولید پروتئین میکروبی و پروتئین قابل‌استفاده در روده باریک افزایش می‌یابد.

### نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی نتایج این آزمایش نشان داد که ترکیبات متفاوت با ویژگی بافری یا قلیا کننده دارای ارزش بافری متفاوت می‌باشند. زمانی که این ترکیبات در مقادیر متوازن از نظر ظرفیت بافری با جیره‌های مختلف از نظر علوفه به مواد متراکم استفاده شوند، اثرات متفاوتی را از نظر مصرف نیتروژن در شکمبه ایجاد می‌نمایند. هرچند که نیاز به بررسی مخلوط‌های متفاوت این ترکیبات در جیره‌های مختلف ضروری است. از سوی دیگر با استفاده از نتایج این آزمایش می‌توان خوراک‌هایی را برای گاوهای شیرده با تولید متفاوت طراحی و اثر هر یک از بافرها و قلیا کننده‌های مورد استفاده در این آزمایش در شرایط درون تنی مورد بررسی قرار گیرد. به نظر می‌رسد که در بین ترکیبات مورد ارزیابی بی‌کربنات سدیم و کربنات پتاسیم دارای بهترین تأثیر بر تولید پروتئین میکروبی و پروتئین قابل‌استفاده در روده باریک در جیره‌های مختلف از نظر نسبت علوفه به مواد متراکم باشد.

همچنین این تیمار در زمان‌های ۸ و ۲۴ ساعت پس از کشت از بیش‌ترین مقدار پروتئین قابل‌استفاده در روده باریک برخوردار بود. نتایج تحقیق حاضر در ارتباط با پروتئین قابل‌استفاده در روده باریک همراستا با نتایج آزمایش برون تنی پروتئین میکروبی بود. پروتئینی که از روده باریک عبور می‌کند، به‌وسیله پروتئین تجزیه‌شده در شکمبه تعیین می‌شود. از آنجاکه پروتئین قابل‌استفاده در روده باریک در واقع مجموع میزان پروتئین میکروبی تولیدشده در شکمبه به روده باریک همراه با بخشی از پروتئین خوراک که در شکمبه مورد تجزیه واقع نشده است (Kim و همکاران، ۲۰۱۴). نتایج نشان داد جیره‌های حاوی بی‌کربنات سدیم بیشترین میزان پروتئین مؤثر قابل‌استفاده در روده باریک را داشت ( $P < 0/01$ ). با افزودن بافرها به جیره میزان سنتز پروتئین میکروبی افزایش می‌یابد که در نتیجه افزایش در پروتئین واردشده به روده باریک ایجاد خواهد شد (Mesgaran و همکاران، ۲۰۱۷). Hu و Murphy (۲۰۰۵) نشان دادند که سطح بالای مکمل بی‌کربنات سدیم در مقایسه با سطح متوسط مکمل بی‌کربنات سدیم در مصرف، هضم و تولید شیر گاوهای شیرده شرایط مشابهی را ایجاد می‌کند. افزودن بافر بی‌کربنات سدیم به جیره طبق آزمایشات انجام شده در مطالعه حاضر و دیگر مطالعات (Grings و همکاران، ۲۰۰۵، Tucker و Le Ruyet، ۱۹۹۲) منجر به افزایش pH در

### منابع

- Akhtar, M., and Javaid, A. 2017. Effect of varying levels of dietary rumen undegradable protein on dry matter intake, nutrient digestibility and growth performance of crossbred cattle heifers. *Gomal University Journal of Research*, 33(2):58–67.
- Alfonso-Avila, A.R., Charbonneau, É., Chouinard, P.Y., Tremblay, G.F. and Gervais, R. 2017. Potassium carbonate as a cation source for early-lactation dairy cows fed high-concentrate diets. *Journal of Dairy Science*, 100(3):1751–1765.
- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). 2005. *Official Methods of Analysis*. 9th ed. Ass. Offic. Agr. Chemists, Washington, D.C.
- Bahrami-Yekdangi, M., Ghorbani, G.R., Khorvash, M., Khan, M.A. and Ghaffari, M.H. 2016. Reducing crude protein and rumen degradable protein with a constant concentration of rumen undegradable protein in the diet of dairy cows: Production performance, nutrient

- digestibility, nitrogen efficiency, and blood metabolites. *Journal of Animal Science*, 94(2):718-725.
- Boerner, B. J., Byers, F.M., Schelling, G.T., Coppock, C.E. and Greene, L.W. 1987. Trona and sodium bicarbonate in beef cattle diets: Effects on pH and volatile fatty acid concentrations. *Journal of Animal Science*, 65(1):309-316.
- Counotte, G.H.M., Van't Klooster, A.T., Van der Kuilen, J. and Prins, R.A. 1979. An analysis of the buffer system in the rumen of dairy cattle. *Journal of Animal Science*, 49(6):1536-1544.
- Danesh Mesgaran, M., Heravi Moussavi, A., Jahani Azizabadi, H., Vakili, S.A., Tabatabaie Yazdy, F. and Danesh Mesgaran, S. 2009. The effect of grain sources on *in vitro* rumen acid load of close-up dry cow diets. In *Proceeding of the XI th International Symposium on Ruminant Physiology*, 146-148.
- Edmunds, B., Südekum, K.H., Spiekens, H., Schuster, M. and Schwarz, F.J. 2012. Estimating utilisable crude protein at the duodenum, a precursor to metabolizable protein for ruminants, from forages using a modified gas test. *Animal Feed Science and Technology*, 175(3-4):106-113.
- Erdman, R.A., Piperova, L.S. and Kohn, R.A. 2011. Corn silage versus corn silage: alfalfa hay mixtures for dairy cows: Effects of dietary potassium, calcium, and cation-anion difference. *Journal of Dairy Science*, 94(10):5105-5110.
- Fadaee, S., Danesh Mesgaran, M. and Vakili, A. 2021. *In vitro* Effect of the Inorganic Buffers in the Diets of Holstein Dairy Cow Varying in forage: Concentrate Ratios on the Rumen Acid Load and Methane Emission. *Journal Animal Science*, 11(3):485-496. (In Persian).
- Golder, H.M., Celi, P. and Lean, I.J. 2014. Ruminal acidosis in a 21-month-old Holstein heifer. *The Canadian Veterinary Journal*, 55(6):559-564.
- Grings, E. E., Blümmel, M. and Südekum, K.H. 2005. Methodological considerations in using gas production techniques for estimating ruminal microbial efficiencies for silage-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 123:527-545.
- Harrison, J., White, R., Kincaid, R., Block, E., Jenkins, T. and St-Pierre, N. 2012. Effectiveness of potassium carbonate sesquihydrate to increase dietary cation-anion difference in early lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 95(7):3919-3925.
- Hu, W. and MurpHy, M.R. 2005. Statistical evaluation of early- and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. *Animal Feed Science and Technology*, 119:43-54.
- Jafarpour Boroujeni, M., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A.R. and Naserian, A.A. 2016. *In vitro* ruminal Acid load and methane emission responses to supplemented lactating dairy cow diets with inorganic compounds varying in buffering capacities. *Journal Animal Science*, 6(4):769-775. (In Persian).
- Jasaitis, D.K., Wohlt, J.E. and Evans, J.L. 1987. Influence of feed ion content on buffering capacity of ruminant feedstuffs *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 70(7):1391-1403.
- Javid, A., Shahzad, M.A., Nisa, M. and Sarwar, M. 2011. Ruminal dynamics of ad libitum feeding in buffalo bulls receiving different level of rumen degradable protein. *Livestock Science*, 135(1):98-102.
- Kang, S. and Wanapat, M. 2018. Rumen-buffering capacity using dietary sources and *in vitro* gas fermentation. *Animal Production Science*, 58(5):862-870.
- Kang, S., Wanapat, M., Cherdthong, A. and PHesatcha, K. 2015. Comparison of banana flower powder and sodium bicarbonate supplementation on rumen fermentation and milk production in dairy cows. *Animal Production Science*, 56:1650-1661.
- Kim, I.H., kang, H.G., Jeong, J. K., Hur, T.Y. and Jung, Y.H. 2014. Inflammatory cytokine concentration in uterine flush and serum samples from dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Theriogenology*, 85(3):427-432.
- Krause, K.M. and Oetzel, G.R. 2006. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4):215-236.



- Le Ruyet, P. and Tucker, W.B. 1992. Ruminant buffers: Temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet. *Journal of Dairy Science*, 75(4):1069-1077.
- Lean, I.J., Golder, H.M. and Hall, M.B. 2014. Feeding, evaluating, and controlling rumen function. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 30(3):539-575.
- Li, S., Khafipour, E., Krause, D.O., Kroeker, A., Rodriguez-Lecompte, J.C., Gozho, G.N. and Plaizier, J.C. 2012. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(1):294-303.
- Menke, K.H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28:7-55.
- Mesgaran, M.D., Eyni, B., Vakili, A. and Valizadeh, R. 2017. *In vitro* yield of microbial-n from fermentation of glucogenic and lipogenic diets provided by different sources of rumen degradable amino acids. *Journal of Veterinary Science and Technology*, 8:4-10.
- Moeini, M. M., Mohamadi Chapdareh, W. and Sori, M. 2017. The effect of supplementing Rumenobuffer, Sodium bicarbonate and mixed herbs on acidosis, VFA, blood parameters and performance of fattening Kurdy lambs. *Journal of Ruminant Research*, 5(2):87-100. (In Persian).
- Mutsvangwa, T., Davies, K.L., McKinnon, J.J. and Christensen, D.A. 2016. Effects of dietary crude protein and rumen-degradable protein concentrations on urea recycling, nitrogen balance, omasal nutrient flow, and milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(8):6298-6310.
- NRC. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7th Ed.)*. National Academy Press, Washington, DC.
- Ørskov, E.R. and McDonald, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92(2):499-503.
- Plaizier, J. C., Mesgaran, M. D., Derakhshani, H., Golder, H., Khafipour, E., Kleen, J. L. and Zebeli, Q. 2018. Enhancing gastrointestinal health in dairy cows. *Animal*, 12(2):399-418.
- Rustomo, B., Can't, J.P., Fan, M.P., Duffield, T.F., Odongo, N.E. and McBride, B.W. 2006. Acidogenic value of feeds I. The relationship between the acidogenic value of feeds and *in vitro* ruminal pH changes. *Canadian Journal of Animal Science*, 86(1):109-117.
- Santra, A., Chaturvedi, O.H., Tripathi, M.K., Kumar, R. and Karim, S.A. 2003. Effect of dietary sodium bicarbonate supplementation on fermentation characteristics and ciliate protozoal population in rumen of lambs. *Small Ruminant Research*, 47(3):203-212.
- Tucker, W.B., Hogue, J.F., Aslam, M., Lema, M., Martin, M., Owens, F.N. ... and Adams, G.D. 1992. A buffer value index to evaluate effects of buffers on ruminal milieu in cows fed high or low concentrate, silage, or hay diets. *Journal of Dairy Science*, 75(3):811-819.
- Uddin, J.M., Haque, K.Z., Jasimuddin, K.M., Hasan, K.M.M. 2015. Dynamics of microbial protein synthesis in the rumen a review. *Veterinary and Animal Science*, 2(5):2312-9123.
- Van Soest, P.V., Robertson, J.B. and Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10):3583-3597.
- Wadhwa, D., Borgida, L.P., Dhanoa, M.S. and Dewhurst, R.J. 2001. Rumen acid production from dairy feeds. 2. Effects of diets based on corn silage on feed intake and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 84(12):2730-2737.
- West, J.W., Coppock, C.E., Milam, K.Z., Nave, D.H., Labore, J.M. and Rowe Jr, L.D. 1987. Potassium carbonate as a potassium source and dietary buffer for lactating Holstein cows during hot weather. *Journal of Dairy Science*, 70(2):309-320.
- Yang, C.T., SI, B.W., Diao, Q.Y., Hai, J.I.N., Zeng, S.Q. and Yan, T.U. 2016. Rumen fermentation and bacterial communities in weaned Chahaer lambs on diets with different protein levels. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(7):1564-1574.
- Zain, M., Putri, E.M., Rusmana, W.S.N. and Erpomena Makmur, M. 2020. Effects of Supplementing *Gliricidia sepium* on ration based ammoniated rice straw in ruminant feed to

decrease methane gas production and to improve nutrient digestibility (*in-vitro*). International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology, 10(2):724-729.

Zali, A., Nasrollahi, S.M. and Khodabandelo, S. 2019. Effects of two new formulas of dietary buffers with a high buffering capacity containing Na or K on performance and metabolism of mid-lactation dairy cows. Preventive Veterinary Medicine, 163:87-92.