



ساخت مکمل رومینوبافر از ترکیب بافرهای رایج و گیاهان دارویی جهت پیشگیری از اسیدوز با استفاده از جیره پر کنسانتره در شرایط برون تنی

وفا محمدی چپدره^۱، محمد مهدی معینی^{۲*}، منوچهر سوری^۲

۱- دانش آموخته دکتری تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشگاه رازی کرمانشاه

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه رازی کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۶)

چکیده

در این مطالعه با استفاده از کشت برون تنی میکروارگانیسم‌های شکمبه، امکان ساخت مکمل ترکیبی جدید جهت پیشگیری از اسیدوز با استفاده از بافرهای رایج، مواد معدنی و گیاهان دارویی بر اساس حفظ pH، شاخص اسیدزایی (AV)، مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی (IVDMD) و نسبت AV/IVDMD، در جیره پر کنسانتره بررسی شد. این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار آزمایش انجام شد. در آزمایش اول، تیمارهای آزمایشی شامل بافرها (بی‌کربنات سدیم، بی‌کربنات پتاسیم، اکسید منیزیم، بنتونیت سدیم و زئولیت)، گیاهان دارویی (آنیسون، رزماری، فلفل، مرزنگوش، دارچین و سیر) به مقدار یک درصد ماده خشک جیره و مواد معدنی (کبالت، مس، منگنز، سلنیم و روی) به مقدار یک در میلیون قسمت در واحد خوراک بود. در آزمایش دوم و سوم از ترکیب‌های متفاوت (بافر-گیاهان دارویی-مواد معدنی) به مقدار یک درصد ماده خشک جیره استفاده شد. ترکیب ۱ (بی‌کربنات سدیم ۲۹/۵٪، اکسید منیزیم ۲۵٪، بنتونیت سدیم ۱۸٪، انیسون ۱۰٪، سیر ۹٪ و رزماری ۸/۵٪) در آزمایش سوم عملکرد معنی‌داری داشت و "رومینوبافر" نام گرفت. در آزمایش چهارم، رومینوبافر در مقایسه با بی‌کربنات سدیم و گیاه رزماری مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج آزمایش اول نشان داد که بی‌کربنات سدیم، بی‌کربنات پتاسیم، اکسید منیزیم و گیاه دارویی رزماری نسبت به سایر تیمارها اثر معنی‌داری بر pH، مقدار ماده خشک ناپدید شده و شاخص اسیدزایی داشتند ($P < 0/01$). نتایج آزمایشات دوم و سوم نشان داد که اغلب ترکیب‌ها آثار معنی‌داری بر حفظ pH، مقدار ماده خشک ناپدید شده و شاخص اسیدزایی داشتند ($P < 0/01$). با توجه به نتایج این آزمایش، مکمل رومینوبافر شاخص اسیدزایی و نسبت شاخص اسیدزایی به مقدار ماده خشک ناپدید شده کمتری داشت و ضمن حفظ pH در ساعت‌های اولیه انکوباسیون، توانست pH محیط را در سطح بالاتری حفظ نماید.

واژه‌های کلیدی: اسیدیته، بی‌کربنات سدیم، رومینوبافر، شاخص اسیدزایی، گیاه دارویی

* نویسنده مسئول: mmoeini@razi.ac.ir

مقدمه

منظور ارزیابی تولید و خنثی شدن اسید در هنگام تخمیر خوراک ارائه شده است (Wadhwa *et al.*, 2001). نتایج آزمایشات نشان داده است که بهترین زمان اندازه‌گیری pH شکمبه‌ای قابل تخمین با شاخص اسیدزایی خوراک‌ها در شرایط آزمایشگاهی، ۲۴ ساعت اول انکوباسیون است (Rustomo *et al.*, 2006). بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی امکان ساخت یک مکمل ترکیبی بافری جدید جهت پیشگیری از اسیدوز با استفاده از بافرهای رایج، مواد معدنی و گیاهان دارویی موثر در فرآیند تخمیر شکمبه‌ای در شرایط کشت برون‌تنی میکروارگانیسم‌های شکمبه با ارزیابی فراسنجه‌هایی همچون شاخص اسیدزایی (AV)، حفظ pH، مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون‌تنی (IVDMD^۲) و نسبت اسیدزایی به ماده خشک ناپدید شده (AV/IVDMD) در جیره پرکنسانتره بود. تیمارهایی که اثرات معنی‌داری را در شرایط برون‌تنی از خود نشان داد، در مراحل بعدی آزمایش به صورت ترکیبی مورد آزمایش قرار گرفتند که در نهایت منجر به معرفی مکمل ترکیبی موثر در پیشگیری از اسیدوز شد.

مواد و روش‌ها

برای ارزیابی برون‌تنی بافرها، گیاهان دارویی، مواد معدنی و ترکیبات متنوع آنها در سیستم کشت ثابت، تعداد سه راس گوسفند نر نژاد سنجایی فیستوله‌گذاری شده استفاده شد. به منظور مشابه بودن شرایط اکوسیستم شکمبه، قوچ‌ها با شرایط آزمایش برون‌تنی، از سه هفته قبل از نمونه‌گیری با ترکیب جیره پرکنسانتره (۲۶ درصد علوفه و ۷۴ درصد کنسانتره) تغذیه شدند. بعد از ۱۲ ساعت گرسنگی، نمونه مایع شکمبه گرفته شد و با حفظ دمای اولیه به داخل آزمایشگاه منتقل شد. در هر بار آزمایش نمونه مایع شکمبه جدید گرفته می‌شد. سپس با استفاده از مایع شکمبه بافری (بزاق مصنوعی)، نمونه مایع شکمبه در شرایط بی‌هوازی، بافری می‌شد. خوراک پایه آزمایشگاه با نسبت علوفه ۲۰ درصد به کنسانتره ۸۰ درصد آماده شد، به طوری که ترکیب مواد خوراکی جیره شامل یونجه خشک، کنجاله سویا، دانه ذرت و دانه جو با نسبت ترکیب (۲۷:۲۶:۲۷:۲۰) و ترکیب شیمیایی جیره پایه شامل $Ca=۱/۰۵$ ، $NFC=۵۴$ ، $NDF=۱۸/۹$ ، $TDN=۸۷$ ، $CP=۱۸/۳$ و $P=۰/۱۶$ (درصد از ماده خشک) بود. خوراک پایه در

در سیستم پرورش گاو شیری پرتولید، به منظور افزایش توان تولید و حفظ وضعیت نمره بدنی و تأمین انرژی و پروتئین مورد نیاز، از جیره‌های پرکنسانتره استفاده می‌شود. بدین منظور در بیشتر موارد از دانه‌های غلات با کربوهیدرات سریع تخمیر شونده در جیره استفاده می‌شود (Stockdale, 1990). در زمان افزایش مصرف کربوهیدرات‌های سریع تخمیر شونده و افزایش تولید اسید در شکمبه، گاوها با سازگاری‌های رفتاری، فیزیولوژیکی و متابولیکی نظیر کاهش مصرف خوراک، تغییر رفتار تغذیه‌ای، تغییر در فعالیت‌های بازدارنده و تغییر در جذب از شکمبه، pH شکمبه خود را در دامنه نسبتاً کوچکی حفظ می‌کنند تا منجر به ناهنجاری‌های بالینی نشود (Ketelaars and Tolcamp, 1992). بنابراین سطح بالای کنسانتره و دانه‌های قابل تخمیر در جیره، زمینه را برای بروز اسیدوز مستعد می‌نماید (Garrett *et al.*, 1999). بروز اسیدوز تحت بالینی در گله، خسارت مالی فراوانی به دامدار تحمیل می‌نماید. با کاهش ADF خوراک، pH شکمبه به کمتر از ۶/۳ افت می‌کند، در نتیجه میزان خوراک مصرفی کاهش می‌یابد (Owens *et al.*, 1998). مطالعات نشان داده‌اند استفاده از بافرها در تغذیه دام، شرایط محیطی شکمبه را بهبود داده و به وسیله تعدیل اسیدیته شکمبه، از افت pH جلوگیری می‌نماید (Richard and Erdman, 1988). هر چند نیاز به مواد بافری در جیره نشخوارکنندگان تابعی از ترشح بزاق، ظرفیت بافری مواد خوراکی و اسیدیته خوراک است (Richard and Erdman, 1988). همچنین نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که اسانس‌های گیاهی می‌توانند تخمیر میکروبی شکمبه را به طور مطلوبی تغییر دهند (Bechaar *et al.*, 2007). شاخص اسیدزایی (AV^۱) خوراک‌ها تابعی از میزان ADF، NFC، زمان مصرف خوراک و pH شکمبه است (Rustomo *et al.*, 2006). بهترین پیشگویی برای شاخص اسیدزایی منابع انرژی خوراک‌ها، نسبت NFC به ADF است، به طوری که به هر میزان نسبت NFC به ADF بیشتر باشد، شاخص اسیدزایی آن خوراک بیشتر است. بنابراین جیره‌های با کنسانتره بالا شاخص اسیدزایی بیشتری دارند. تکنیکی به

(Wadhwa et al., 2001). نمونه به مدت ۵ ثانیه با دست مخلوط شد و در دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی به وسیله سمپلر جمع‌آوری و به میکروتیوب دیگری منتقل و تا زمان تجزیه در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس جهت محاسبه مقدار ماده خشک باقیمانده، محتوای باقیمانده هر ویال را به لوله‌های آزمایش ۱۲۰ میلی‌لیتری منتقل نموده و در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از دور ریختن مایع رویی هر لوله، مواد جامد باقیمانده کاملاً ته‌نشین شده، به بوته چینی منتقل شد و سپس با خشک کردن در آون در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد، مقدار ماده خشک باقیمانده هر ویال محاسبه شد. پس از کسر این مقدار از وزن نمونه اولیه (یک گرم)، درصد ناپدید شدن ماده خشک در شرایط برون‌تنی (IVDMD) محاسبه شد. جهت محاسبه شاخص اسیدزایی، ابتدا غلظت کلسیم نمونه‌های مایع شکمه که پس از پایان انکوباسیون و در میکروتیوب ۲/۵ میلی‌لیتری در فریزر نگهداری شده بودند، پس از یخ‌گشایی با استفاده از کیت اندازه‌گیری کلسیم (با دامنه ۰/۲ تا ۲۰ و برای غلظت‌های بیشتر از ۲۰ با رقیق‌سازی به وسیله سرم فیزیولوژی رقیق مطابق دستورالعمل کیت^۳) با دقت $\pm 0/1 \text{ mg/dL}$ و دستگاه اسپکتوفتومتر^۴ اندازه‌گیری شد. سپس حاصل ضرب غلظت کلسیم در حجم مایع (۳۰ میلی‌لیتر) تقسیم بر وزن نمونه (یک گرم) به عنوان ارزش اسیدزایی ظاهری محاسبه شد (Wadhwa et al., 2001). پس از تصحیح نمونه‌ها بر اساس نمونه‌های بلانک (مایع شکمه بافری شده بدون تیمار و خوراک پایه) در هر دوره گرمخانه‌گذاری، برای از بین بردن اثر کلسیم خوراک، ارزش اسیدزایی حقیقی (AV) به صورت ارزش اسیدزایی ظاهری (پس از افزودن کربنات کلسیم) منهای ارزش اسیدزایی پایه (پیش از افزودن کربنات کلسیم) محاسبه شد. برای اندازه‌گیری pH لحظه‌ای، روش اولیه آماده‌سازی نمونه‌های آزمایش مشابه روش بالا بود. به طوری که نمونه‌ها به مدت ۲ تا ۱۲ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد در انکوباتور نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش، گازهای ناشی از تخمیر با استفاده از سوزن و نوجکت به صورت یک‌طرفه خارج می‌شد (امینی و دانش‌مسگران، ۱۳۹۱). بنابراین برای

آزمایشگاه بعد از خشک و آسیاب کردن با الک یک میلیمتری، به صورت کاملاً مخلوط و خشک شده در آون ۶۰ درجه آماده شد.

در آزمایش اول، تیمارهای آزمایشی شامل بافرها (بی‌کربنات سدیم، بی‌کربنات پتاسیم، اکسید منیزیم، بنتونیت سدیم و زئولیت)، گیاهان دارویی (انیسون *(Pimpinellaanisum)*، رزماری

(Rosmarinusofficinalis)، فلفل *(Capsicum)*، مرزنگوش *(Origanumvulgare)*، دارچین *(Cinnamomumverum)* و سیر *(Allium sativum)*) به صورت پودر به مقدار یک درصد ماده خشک جیره و مواد معدنی (کبالت، مس، منگنز، سلنیم و روی) به مقدار یک قسمت در میلیون قسمت واحد خوراک و گروه شاهد (فقط خوراک پایه آزمایشی) و در آزمایش‌های دوم و سوم (ترکیبات متنوع از این مواد به مقدار یک درصد ماده خشک جیره) بود.

روش اندازه‌گیری فراسنجه‌های آزمایش به این صورت بود که ابتدا مقدار مشخص (یک درصد) از مواد مورد آزمایش در هر تیمار با مقدار مشخص از خوراک پایه که مجموعاً یک گرم می‌شد وزن‌کشی شدند، سپس داخل ویال ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شدند. به عبارتی یک گرم نمونه خوراک خشک حاوی تیمار، مستقیماً به ویال‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل شد و سپس مایع شکمه بافری شده (۶۰ درصد بافر و ۴۰ درصد مایع شکمه) تحت جریان گاز دی‌اکسیدکربن به میزان ۳۰ میلی‌لیتر به داخل هر ویال افزوده شد و پس از اضافه نمودن سیستمین هیدروکلریدمونوهیدرات (۰/۲۵ درصد وزنی حجمی)، درون دستگاه انکوباتور شیکردار^۱ در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد با تعداد ۵۰ نوسان در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد (Wadhwa et al., 2001). گازهای ناشی از تخمیر با استفاده از سوزن و نوجکت یک‌طرفه، از محیط خارج می‌شد (امینی و دانش‌مسگران، ۱۳۹۱).

میزان pH محیط کشت در ساعت صفر و نیز پس از پایان انکوباسیون (۲۴ ساعت) با استفاده از pH متر^۳ قلمی اندازه‌گیری شد. بعد از اتمام انکوباسیون، دو میلی‌لیتر نمونه مایع از محتوای هر ویال به میکروتیوب ۲/۵ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌گرم پودر کربنات کلسیم جهت اندازه‌گیری شاخص اسیدزایی (AV) منتقل شد

3. 2-Cresolphthalein, 107400, Parsazmun co, Iran.
4. CARY 100, Varian, Australia

1. Thermo shake, model Gerhardt, Germany
2. PH-56, Milwaukee, Italy

دسته اول شامل شش ترکیب متفاوت و بدون افزودن مواد معدنی (گروه بافرها ۷۲/۵ درصد + گروه گیاهان دارویی ۲۷/۵ درصد) و دسته دوم شامل شش ترکیب متفاوت با افزودن مواد معدنی (گروه بافرها ۷۲ درصد + گروه گیاهان دارویی ۲۷ درصد + گروه مواد معدنی ۱ درصد). بنابراین شش ترکیب نهایی با و بدون مواد معدنی در آزمایش سوم (مجموعاً ۱۲ ترکیب + شاهد) مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول ۳).

در آزمایش چهارم، بهترین ترکیب آزمایش سوم که با گروه شاهد تفاوت معنی دار داشت و بیشترین اثرات مثبت در فراسنجه‌های مورد آزمایش را دارا بود، انتخاب شد (جدول ۳، ترکیب ۱). ترکیب ۱ متشکل از بی‌کربنات سدیم ۲۹/۵٪، اکسید منیزیم ۲۵٪، بنتونیت سدیم ۱۸٪، انیسون ۱۰٪، سیر ۹٪ و رزماری ۸/۵٪ بود و بنا به پیشنهاد نگارندگان، این ترکیب "رومینوبافر" نامگذاری شد. بنابراین در آزمایش چهارم، مکمل رومینوبافر (ترکیب شماره ۱ آزمایش سوم) با بی‌کربنات سدیم و گیاه رزماری که بهترین عملکرد در حالت انفرادی را داشتند مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول ۱). به عبارتی تیمارها در آزمایش چهارم شامل رومینوبافر (یک درصد ماده خشک)، بی‌کربنات سدیم (یک درصد ماده خشک)، رزماری (یک درصد ماده خشک) و شاهد (فقط خوراک پایه) بود.

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام شد. سپس داده‌های این آزمایش با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.1 و برای فراسنجه‌های طرح آزمایشی پایه (AV، IVDMD، AV/IVDMD و pH پایانی) و رویه Mixed برای فراسنجه‌هایی که اثر زمان در آن دخیل بودند (pH لحظه‌ای)، تجزیه شدند (SAS, 2004). برای تعیین درصد وزنی و درصد ترکیب از میانگین آماری و برای درصد تاثیرگذاری در ترکیب از میانگین وزنی استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از آنکوباسیون برون‌تنی تیمارها در آزمایش اول در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بی‌کربنات سدیم، بی‌کربنات پتاسیم، اکسید منیزیم و گیاه دارویی رزماری نسبت به سایر تیمارها اثر معنی‌داری بر حفظ pH، ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون‌تنی و شاخص اسیدزایی داشتند

اندازه‌گیری pH لحظه‌ای، تیمارها (پنج تکرار برای هر تیمار) برای شش زمان متفاوت در آنکوباتور نگهداری شدند و بعد از پایان هر زمان، محتویات ویال‌ها دور ریخته شد. روش کار برای زمان‌های متفاوت به این صورت بود: برای مثال در زمان اول، تیمارها به مدت ۲ ساعت آنکوبه شدند و بعد از پایان ۲ ساعت با استفاده از pH متر قلمی اندازه‌گیری شد. بنابراین برای هر کدام از زمان‌های دوم، سوم، چهارم، پنجم و ششم، تیمارها به مدت ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ ساعت آنکوبه شدند و بعد از پایان هر زمان با استفاده از pH متر قلمی اندازه‌گیری شدند و محتویات ویال‌ها در پایان هر زمان اندازه‌گیری و دور ریخته می‌شد. برای تعیین ترکیب‌های آزمایش دوم، بعد از آزمون مقایسات میانگین بین تیمارها در مرحله اول که به صورت انفرادی استفاده شده بودند، بهترین تیمارها در بین همان گروه (بافرها، گیاهان دارویی یا مواد معدنی) که تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد داشتند انتخاب می‌شدند و بقیه تیمارها که نسبت به گروه شاهد معنی‌دار نبودند یا آثار کمتری داشتند از گروه حذف می‌شدند. تیمارهای باقیمانده در هر گروه بر اساس درصد وزنی موثر در هر فراسنجه (pH لحظه‌ای، pH پایان آنکوباسیون، درصد ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون‌تنی (IVDMD)، شاخص اسیدزایی (AV) و نسبت ماده خشک ناپدید شده به ارزش اسیدزایی (AV/IVDMD))، برای آزمایش دوم تیماربندی شدند که شامل تیمارهای (ترکیب با pH مناسب، ترکیب با قابلیت هضم مناسب، ترکیب میانگین و ترکیب اقتصادی) هر گروه در آزمایش دوم بودند (جدول ۲). لازم به ذکر است ترکیب میانگین از میانگین دو ترکیب اولی (pH و قابلیت هضم) و ترکیب اقتصادی به وسیله میانگین درصد ترکیب و درصد وزنی قیمت هر ترکیب محاسبه شده و ارزان‌ترین ترکیب انتخاب شد.

برای تعیین ترکیب‌های آزمایش سوم، بهترین ترکیب‌های آزمایش دوم که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۲) با توجه به درصد وزنی موثر بودن و بعد از آزمون مقایسات میانگین انتخاب شدند. با توجه به نتایج جدول ۲، ترکیب‌های انتخاب شده برای آزمایش سوم گروه بافرها و گیاهان دارویی بودند و شامل شش ترکیب متفاوت شد. سپس جهت بررسی اثرات افزودن ترکیب ثابت مواد معدنی انتخاب شده به شش ترکیب انتخاب شده، ترکیبات آزمایش سوم به دو دسته تقسیم شدند:

(*et al.*, 2005). اثرات مثبت سایر گیاهان دارویی به وسیله محققان دیگر بیان شده است، به طوری که گیاه مرزنگوش به عنوان آنتی اکسیدان و محرک سیستم ایمنی با بهبود عملکرد دستگاه گوارش (Amrik and Bilkei, 2004)، پودر فلفل با تنظیم عملکرد اتصالات محکم بین سلولی دستگاه گوارش و تحریک دستگاه گوارش (Jensen Jarolim *et al.*, 1998)، دارچین و مشتقات آن جهت افزایش اشتها به عنوان محرک فرآیند هضم و آنتی اکسیدان و به عنوان ترکیباتی ضد عفونی کننده با خاصیت ضد باکتریایی (باکتری های گرم مثبت و گرم منفی) مصرف شده است (Johny *et al.*, 2008). همچنین وضعیت اشتهای حیوانات با مصرف مخلوط کاسنی و انیسون بهبود یافته است (تراپی گودرزی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتایج حاصل از اجرای آزمایش دوم در جدول ۲ ارائه شده است. ترکیب دارای pH مناسب در گروه بافرها نسبت به سایر ترکیبها آثار مثبت و قابل توجهی داشت (جدول ۲). ترکیب دارای قابلیت هضم مناسب در گروه گیاهان دارویی نسبت به سایر ترکیبها عملکرد بهتری داشت (جدول ۲). به عبارتی گیاهان دارویی و اجزای فعال آنها که بتوانند قابلیت هضم خوراک را افزایش دهند در حفظ اسیدیته شکمبه هم موثر خواهند بود. مخلوط اسانس گیاهان دارویی (رزماری، اکالیپتوس و گلپر) بر کاهش متان و افزایش پروتئین میکروبی و سایر فراسنجه های دیگر در شرایط برون تنی موثر بوده اند (وئوقی و همکاران، ۱۳۹۳). ترکیبات متفاوت مواد معدنی هم بر فراسنجه های برون تنی اثر معنی دار نداشتند، ولی ترکیب اقتصادی از گروه مواد معدنی نسبت به شاهد عملکرد بهتری داشت (جدول ۲). ترکیب های مندرج در جدول ۲ که نسبت به شاهد در همان گروه اثرات معنی دار و مثبت داشتند، برای آزمایش سوم انتخاب شدند و اثرات ترکیبی گروهها در نظر گرفته شد. نتایج میانگین وزنی عملکرد انفرادی تیمارها و ترکیب های آنها در جداول ۱ و ۲ نشان داد که درصد استفاده گروهها برای ترکیب نهایی در آزمایش سوم به این صورت است: دسته اول (گروه بافرها ۷۲/۵ درصد + گروه گیاهان دارویی ۲۷/۵ درصد) و دسته دوم (گروه بافرها ۷۲ درصد + گروه گیاهان دارویی ۲۷ درصد + گروه مواد معدنی ۱ درصد).

(جدول ۱) ($P < 0.01$). هر چند سایر تیمارها اثر قابل قبولی نسبت به شاهد داشتند، اما اغلب مواد معدنی های مورد آزمایش، اثر قابل توجهی نداشتند (جدول ۱). حفظ اسیدیته مایع شکمبه به وسیله بافرها در مطالعات دیگر به اثبات رسیده است، به طوری که مطالعات نشان داده اند که جیره حاوی بی کربنات سدیم در مطالعات برون تنی، شاخص اسیدزایی و نسبت AV/IVDMD پایینی داشته و می تواند در مقایسه با سایر بافرها، pH شکمبه ای را بهتر حفظ کند (Danesh Mesgaran *et al.*, 2013). در دیگر آزمایشات برون تنی گزارش شده که قابلیت هضم جو در جیره های حاوی بی کربنات سدیم بیشتر بود (Bodas *et al.*, 2009). همچنین مطالعات *in vivo* نشان داده که pH شکمبه در گاوهای شیرده ای که بی کربنات سدیم و کلینوپتیلولیت مصرف کرده بودند بیشتر بود (نیکخواه و همکاران، ۱۳۸۲). هر چند برخی مطالعات، بنتونیت سدیم را به عنوان بافر حقیقی که سبب بهبود pH محیط می شود معرفی کرده اند (Ivan *et al.*, 2001). اما نتایج این آزمایش نشان داد که بنتونیت سدیم نسبت به سایر بافرها اثر قابل توجهی نداشت، هر چند سبب بهبود نسبی در فراسنجه های مربوطه شد (جدول ۱). نتایج این آزمایش نشان داد گیاهان دارویی تاثیر قابل توجهی در حفظ pH و مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی داشتند (جدول ۱). نتایج مطالعات نشان داده که استفاده از سطوح ۳۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم اسانس سیر در شرایط آزمایشگاهی سبب افزایش pH شده است (Busquet *et al.*, 2005). هر چند مطالعات دیگر نشان دادند که مصرف ۲۰۰ میلی گرم اسانس رزماری بدون تغییر در pH شکمبه، سبب بهبودی در هضم خوراک و تخمیر شکمبه ای شده است (صحرايي بلوردی و پیرمحمدی، ۱۳۹۳)، اما نتایج این آزمایش حاکی از حفظ pH محیط به وسیله رزماری بود و با حفظ اسیدیته محیط در شرایط برون تنی، احتمالاً اجازه فعالیت بیشتر به باکتری های فیبرولایتک داده تا قابلیت هضم افزایش یابد، به عبارت دیگر نسبت شاخص اسیدزایی به مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی بهبود داشته است (جدول ۱). حفظ pH محیط بر افزایش قابلیت هضم بسیار مهم است، به طوری که نتایج پژوهشها نشان داده است که در شرایط برون تنی اثرات اسانس های گیاهی و اجزای آنها بر تغییرات کل اسیدهای چرب فرار، به pH محیط بستگی دارد (Busquet

جدول ۱- مقایسه اثر تیمارهای مختلف بر میانگین pH لحظه‌ای، pH پایان انکوباسیون، درصد ماده خشک ناپدید شده در شرایط

برون تنی (IVDMD)، شاخص اسیدزایی (AV) و نسبت شاخص اسیدزایی به ماده خشک ناپدید شده (AV/IVDMD)

Table 1. Comparison of different treatments on the mean of momentary pH, end of the incubation pH, the percentage of *in vitro* dry matter disappearance (IVDMD), acidogenic value (AV), and the ratio of the acidogenic value to amount of disappeared dry matter (AV/IVDMD)

Treatment	Momentary pH	End of incubation pH	AV (mg Ca /g DM)	IVDMD (%)	AV/IVDMD
Sodium bicarbonate	6.66 ^{a*}	5.37 ^a	15.50 ^a	51.42 ^a	0.303 ^a
Potassium bicarbonate	6.66 ^{ab}	5.4 ^a	17.75 ^{ab}	49.77 ^{ab}	0.365 ^{ab}
Magnesium oxide	6.66 ^b	5.37 ^a	16.75 ^a	50.05 ^a	0.334 ^a
Sodium bentonite	6.47 ^d	5.31 ^b	20 ^{cb}	45.75 ^{bc}	0.448 ^c
Zeolite	6.47 ^d	5.29 ^b	19 ^b	50.02 ^a	0.381 ^a
Anise	6.49 ^c	5.33 ^{ab}	21 ^{cd}	48.07 ^{ab}	0.436 ^c
Cinnamon	6.45 ^e	5.32 ^{ab}	19 ^b	41.72 ^{dc}	0.470 ^{cd}
Pepper	6.48 ^{cd}	5.35 ^{ab}	20 ^{cb}	37.50 ^d	0.548 ^d
Marjoram	6.5 ^c	5.34 ^{ab}	20 ^{cb}	49.55 ^{ab}	0.413 ^b
Rosemary	6.54 ^c	5.36 ^a	20 ^{ab}	52.30 ^a	0.344 ^a
Garlic	6.5 ^c	5.22 ^c	20.50 ^{cb}	48.25 ^{ab}	0.426 ^c
Cobalt	6.42 ^e	5.32 ^{ab}	22.50 ^d	47.87 ^{ab}	0.470 ^{cd}
Copper	6.44 ^e	5.32 ^{ab}	21.25 ^d	48.27 ^{ab}	0.440 ^c
Manganese	6.44 ^e	5.29 ^b	22.25 ^d	49.32 ^{ab}	0.451 ^c
Selenium	6.45 ^e	5.31 ^{ab}	21.75 ^d	52.17 ^a	0.426 ^c
Zinc	6.42 ^e	5.30 ^b	22.25 ^d	50.10 ^a	0.445 ^c
Control	6.39 ^e	5.28 ^b	23.75 ^d	49.35 ^a	0.481 ^{cd}
±SEM	0.02	0.03	0.89	1.82	0.03
CV	0.62	1.22	8.84	7.56	13.83
P-value	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05	<0.05

* Means with different superscript are significantly different in each column.

عملکرد را نشان داد (شکل ۱). کاهش مقدار نسبت اسیدزایی به مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی، بیانگر ظرفیت بالای مکمل مورد نظر در حفظ اسیدیته محیط و بهبود شرایط محیط جهت افزایش تجزیه و هضم مواد خوراکی است. بنابراین کاهش مقدار نسبت AV/IVDMD به معنای افزایش بهره‌وری در خوراک مصرف شده و پویایی محیط است. مکمل رومینوبافر ترکیبی از بافرها و گیاهان دارویی است که از ویژگی مؤثر هر کدام از بافرها و گیاهان دارویی موجود در ترکیب خود استفاده کرده و بهترین نسبت AV/IVDMD را نشان داده است (شکل ۱). مقاومت در برابر کاهش pH شکمبه در ساعت‌های اولیه بعد از مصرف خوراک بسیار مهم است. هر ماده خوراکی که بتواند مقاومت از خود نشان دهد، در حفظ pH و افزایش قابلیت هضم مؤثر خواهد بود. در شکل ۲ اثر تیمارها بعد از شروع انکوباسیون در حفظ pH لحظه‌ای نشان داده شده است. مکمل رومینوبافر و بی‌کربنات سدیم در ساعات دوم و چهارم بعد از انکوباسیون بیشترین مقاومت را از خود نشان دادند ($P < 0.05$) و همین امر منجر به بهبود سایر فراسنجه‌ها شده است (شکل‌های ۱ و ۲).

نتایج حاصل از انکوباسیون برون تنی ترکیب‌های نهایی به تفکیک هر گروه در آزمایش سوم در جدول ۳ ارائه شده است. افزودن مواد معدنی به ترکیبها در شرایط برون تنی، تغییرات قابل توجهی ایجاد نکرد (جدول ۳). بیشتر ترکیبها نسبت به شاهد عملکرد بهتری در حفظ pH و مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی داشتند ($P < 0.05$) (جدول ۳). ترکیب ۱ بهترین عملکرد را نسبت به سایر ترکیبها داشت (جدول ۳)، بنابراین ترکیب ۱ از جدول ۳ جهت آزمایش نهایی با حالت انفرادی تیمارهایی که بهترین عملکرد را داشتند (جدول ۱) انتخاب شد و بنا به پیشنهاد نگارندگان، ترکیب ۱ به اسم تجاری "رومینوبافر" نام‌گذاری شد. بنابراین مکمل ترکیبی رومینوبافر از ۷۲/۵ درصد بافرهای معدنی و ۲۷/۵ درصد گیاه دارویی تشکیل شده است.

نتایج حاصل از انکوباسیون برون تنی نمونه‌ها در آزمایش چهارم در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. مکمل ترکیبی رومینوبافر نسبت به بی‌کربنات سدیم و رزماری در حفظ pH پایان انکوباسیون، مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی، شاخص اسیدزایی و نسبت اسیدزایی به مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی بهترین

جدول ۲- مقایسه اثر ترکیبات انتخاب شده در آزمایش دوم بر pH، درصد ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی (IVDMD)،

شاخص اسیدزایی (AV) و نسبت شاخص اسیدزایی به ماده خشک ناپدید شده (AV/IVDMD)

Table 2. Comparison of the effect of selected combination in second test on the pH, the percentage of *in vitro* dry matter disappearance (IVDMD), acidogenic value (AV), and the ratio of the acidogenic value to amount of disappeared dry matter (AV/IVDMD)

Group	Treatment (combinations for second test)	IVDMD (%)	pH	AV (mg Ca /g DM)	AV/IVDMD
Buffer	Combination with suitable digestibility	49.74 ^{a*}	5.88 ^{ab}	18.20 ^{ab}	0.366 ^{ab}
	Economic combination	48.88 ^{ab}	5.84 ^b	19.00 ^{ab}	0.388 ^{ab}
	Mean of combination	50.28 ^a	5.83 ^b	18.80 ^{ab}	0.374 ^{ab}
	Combination with suitable pH	49.96 ^a	6.05 ^a	18.00 ^a	0.360 ^a
	Control	47.60 ^b	5.53 ^c	20.60 ^b	0.433 ^b
	±SEM	0.56	0.06	0.9	0.02
	CV (%)	2.54	2.33	10.62	10.84
	P-value	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01
Herbs	Combination with suitable digestibility	51.66 ^a	5.73 ^a	18.20	0.355 ^a
	Economic combination	47.58 ^{cb}	5.61 ^{ab}	19.80	0.420 ^{ab}
	Mean of combination	49.86 ^{ab}	5.64 ^{ab}	19.00	0.381 ^{ab}
	Combination with suitable pH	49.42 ^{ab}	5.73 ^a	20.20	0.410 ^{ab}
	Control	44.48 ^c	5.48 ^b	20.00	0.451 ^b
	±SEM	1.3	0.07	0.95	0.02
	CV	6.00	3.04	10.93	14.08
	P-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.01
Minerals	Economic combination	46.70	5.67	18.60	0.400
	Mean of combination	46.50	5.60	18.00	0.388
	Control	45.36	5.55	17.80	0.392
	±SEM	1.33	0.06	0.7	0.02
	CV	6.44	2.3	8.72	9.7
	P-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

* Means with different superscript are significantly different in each column.

جدول ۳- مقایسه اثر ترکیبات نهایی انتخاب شده در آزمایش سوم بر pH، درصد ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی

(IVDMD)، شاخص اسیدزایی (AV) و نسبت شاخص اسیدزایی به ماده خشک ناپدید شده (AV/IVDMD)

Table 3. Comparison of the effects of selected combination in third test on the pH, the percentage of *in vitro* dry matter disappearance (IVDMD), acidogenic value (AV), and the ratio of the acidogenic value to amount of disappeared dry matter (AV/IVDMD)

Group	Treatment	pH	IVDMD (%)	AV (mg Ca /g DM)	AV/IVDMD
Without adding minerals	Combination 1	6.23 ^{ab*}	50.67 ^a	17.25 ^a	0.340 ^a
	Combination 2	6.21 ^{ab}	49.10 ^{ab}	19.00 ^{ab}	0.387 ^{abc}
	Combination 3	6.29 ^a	49.12 ^{ab}	18.75 ^{ab}	0.382 ^{ab}
	Combination 4	6.25 ^a	50.20 ^a	19.00 ^{ab}	0.379 ^{ab}
	Combination 5	6.18 ^{ab}	49.20 ^{ab}	18.50 ^{ab}	0.376 ^{ab}
	Combination 6	6.18 ^{ab}	49.90 ^a	18.75 ^{ab}	0.376 ^{ab}
With adding minerals	Combination 1	6.19 ^{ab}	50.32 ^a	19.00 ^{ab}	0.377 ^{ab}
	Combination 2	6.13 ^b	49.07 ^{ab}	19.75 ^{cb}	0.402 ^{cb}
	Combination 3	6.20 ^{ab}	48.45 ^{ab}	19.25 ^{ab}	0.397 ^{cb}
	Combination 4	6.15 ^b	49.25 ^{ab}	17.50 ^a	0.355 ^{ab}
	Combination 5	6.14 ^b	49.67 ^{ab}	19.25 ^{ab}	0.387 ^{abc}
	Combination 6	6.13 ^b	49.72 ^{ab}	18.5 ^{ab}	0.372 ^{ab}
Basal diet	Control	5.9 ^c	47.55 ^b	20.75 ^b	0.436 ^c
	±SEM	0.04	0.83	0.86	0.018
	CV (%)	1.29	3.35	9.15	9.63
	P-value	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

* Means with different superscript are significantly different in each column.

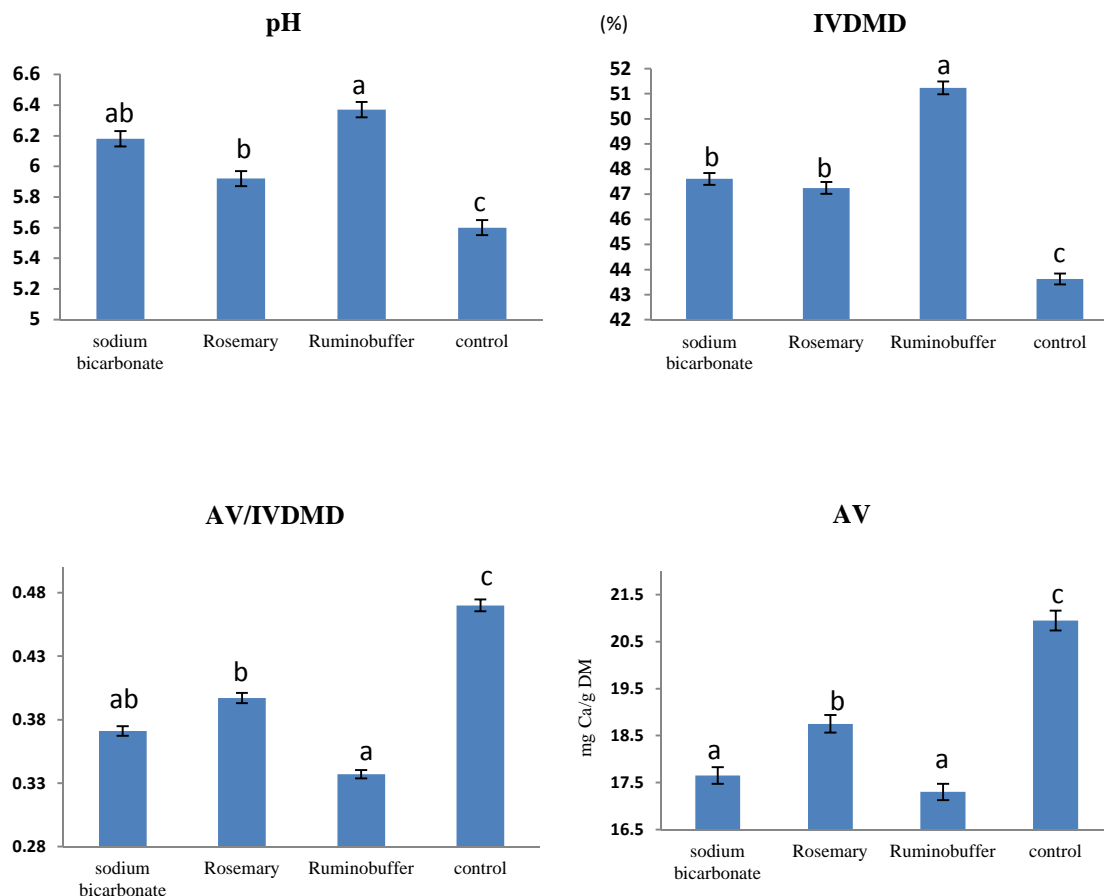


Fig. 1. Comparison of the effect of Rumenobuffer, sodium bicarbonate and Rosemary powder on pH, the percentage of *in vitro* dry matter disappear (IVDMD), acidogenic value (AV), and the ratio of the acidogenic value to amount of disappeared dry matter (AV/IVDMD). * Means with different letters are significantly different ($P < 0.05$)

شکل ۱- مقایسه اثر رومینوبافر، بی کربنات سدیم و رزماری بر pH، درصد ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی (IVDMD)، شاخص اسیدزایی (AV) و نسبت شاخص اسیدزایی به ماده خشک ناپدید شده (AV/IVDMD)

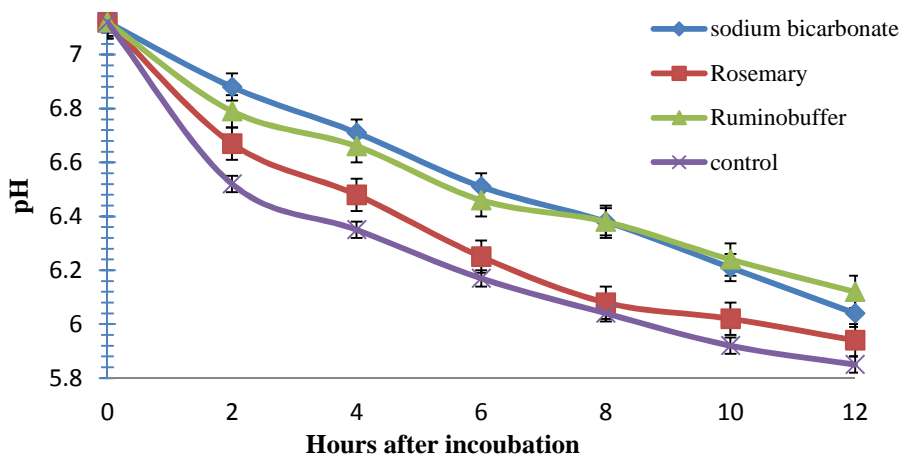


Fig. 2. Comparison of the effect of Rumenobuffer, sodium bicarbonate, Rosemary powder on instantaneous pH

شکل ۲- مقایسه اثر رومینوبافر، بی کربنات سدیم و رزماری بر pH لحظه‌ای

جای آن را می‌گیرند و تولید اسید لاکتیک به صورت دور باطل ادامه می‌یابد (Nocek, 1997). بنابراین کاهش قابلیت هضم در pH های پایین‌تر و گاهاً توقف آن در شرایط برون‌تنی محتمل است.

نتیجه‌گیری کلی

مکمل رومینوبافر که یک مکمل ترکیبی از بافرها و گیاهان دارویی است بهترین عملکرد را در شرایط برون‌تنی نسبت به حالت انفرادی بافرها از خود نشان داد. پیشنهاد می‌شود اثر ترکیبات ساخته شده و مصرف رومینوبافر روی حیوان زنده بررسی شده و با نتیجه آزمایش حاضر مقایسه شود.

ادامه روند کاهش pH تیمارها در شکل ۲ به علت شرایط آزمایش برون‌تنی است، چون در شرایط برون‌تنی متابولیت‌ها و اسیدهای تولید شده در محیط باقی می‌مانند و شرایط مشابه با پویایی محیط شکمبه در جذب اسیدهای چرب فرار و سایر متابولیت‌ها را ندارند. بنابراین روند کاهش pH در شرایط برون‌تنی امری محتمل است. در pH کمتر از ۵/۵، باکتری *استروپتوکوکوس بوویس* (یک تولید کننده مهم اسید لاکتیک) تکثیر می‌شود و باکتری‌های مصرف کننده اسید لاکتیک (*مگاسفرا/السدنی* و *سلنوموناس رومینانتیوم*) کاهش می‌یابند. به عبارتی در این شرایط، تعداد این باکتری‌ها برای مصرف اسید لاکتیک بسیار کم بوده و با تداوم کاهش pH، رشد *استروپتوکوکوس بوویس* متوقف می‌شود، اما لاکتوباسیل‌ها

فهرست منابع

- امینی ج.، و دانش مسگران م. ۱۳۹۱. بررسی بار اسیدی شکمبه‌ای و تخمیر جیره‌های پردانه‌ی حاوی برخی بافرهای شیمیایی در شرایط برون‌تنی. پنجمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، ۵ صفحه.
- ترابی گودرزی م.، باهنر ع.، رئوفی ا.، اکبری ح.، و حقی ق. ۱۳۸۹. ارزیابی اثر مخلوط گیاهان دارویی کاسنی و انیسون بر اشتهای گاو شیری و مقایسه آن با یک فرآورده رایج. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۶(۲): ۲۷۵-۲۸۲.
- صحرائی بلوردی م.، و پیرمحمدی ر. ۱۳۹۳. تاثیر اسانس گیاه رزماری بر قابلیت هضم خوراک و فراسنجه‌های خونی و شکمبه‌ای گوسفندان نژاد قزل. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)، ۱۰۳: ۷۱-۸۲.
- نیکخواه ع.، صفا مهر ع.، و مرادی شهربابک م. ۱۳۸۲. اثرات کلینوپیتولولیت طبیعی و بی‌کربنات سدیم روی متابولیت‌های خون، شیر و ترکیبات شیر گاوهای هلشتاین. پژوهش و سازندگی، ۶۰: ۳۲-۳۸.
- وثوقی ف. ۱۳۹۳. تأثیر سه نوع گیاه دارویی بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه و کاهش گاز متان به روش برون‌تنی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه رازی. ۱۲۸ صفحه.
- Amrik B. and Bilkei G. 2004. Influence of farm application of oregano on performances of sows. Canadian Veterinary Journal, 45: 674-677.
- Benchaar C., Wang Y., Chaves A. V., McAllister T. A. and Beauchemin K. A. 2007. Use of plant extracts in ruminant nutrition. In: Acharya S.N., Thomas J.E., (Eds.) Advanced in Medicinal Plant Research. Research Signpost, Kerala, India, 465-489.
- Bodas R., Frutos P., Giraldez F. J., Hervas G. and Lopez S. 2009. Effect of sodium bicarbonate supplementation on feed intake, digestibility, digesta kinetics, nitrogen balance and ruminal fermentation in young fattening lambs. Spanish Journal of Agricultural Research, 7(2): 330-341.
- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Cardozo P. W. and Kamel C. 2005. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. Journal Dairy Science, 88: 2508-2516.
- DaneshMesgaran M., Amini J. and Paktinat M. 2013. *In vitro* usage of various non-organic compounds to subdue Acidogenic value and enhance the fermentation of alfalfa hay based diets by mixed rumen macrobiotic. International Journal of Livestock Production, 4(10): 165-171.
- Garrett E. F., Pereira M. N., Nordlund K. V., Armentano L. E., Goodger W. J. and Oetzel G. R. 1999. Diagnostic methods for the detection of sub-acute ruminal acidosis in dairy cows. Journal of Dairy Science, 82: 1170-1178.
- Herod E. L., Bechtle R. M., Bartley E. E. and Dayton A. D. 1978. Buffering ability of several compounds *in vitro* and the effect of a selected buffer combination on ruminal acid production *in vivo*. Journal of Dairy Science, 61: 1114-1122.

- Ivan M., Neill L., Alimon R. and Jalaludin S. 2001. Effects of bentonite on rumen fermentation and duodenal flow of dietary components in sheep fed palm kernel cake by-product. *Animal Feed Science and Technology*, 92 (1/2): 127-135.
- Jensen Jarolim E., Gajdzik L., Haber I., Karft D., Scheiner O. and Graf J. 1998. Hot spices influence permeability of human intestinal epithelial monolayer. *Journal of Nutrition*, 128: 577-581.
- Johny K. A., Darre M. J., Hoagland T. A., Schreiber D. T., Donoghue A. M., Donoghue D. J. and Venkitanarayanan K. 2008. Antibacterial effect of trans- cinnamaldehyde on *Salmonella enteritidis* and *Campylobacter jejune* in chicken drinking water. *Journal of Applied Poultry Research*, 17: 490-497.
- Ketelaars J. J. M. H. and Tolkamp B. J. 1992. Towards a new theory of feed intake regulation in ruminants. 3. Optimum feed intake: in search of a physiological background. *Livestock Production Science*, 31: 235-258.
- Nocek J. E. 1997: Bovine acidosis: implication on laminitis. *Journal of Dairy science*, 80: 1005-1028.
- Owens F. N., Secrist D. S., Hill W. J. and Gill D. R. 1998. Acidosis in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, 76: 275-286.
- Richard A. and Erdman A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. *Journal of Dairy Science*, 71: 3246-3266.
- Rustomo B., Cant J. P., Fan M. Z., 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: 109-117.
- SAS. 2004. User's guide: Statistics, Version 9.1. SAS Inst. Inc. and Cary. NC.
- Stockdale C. R. 1990. Effect of length of the period of supplementation with concentrates on pasture intake and performance of grazing dairy cows. *Australian Journal of experimental Agriculture*, 39: 803-809.
- Wadhwa D., Beck N. F. G., Borgida L. P., Dhanoa M. S. and Dewhurst R. J. 2001. Development of a simple *in vitro* assay for estimating net rumen acid load from diet ingredients. *Journal of Dairy Science*, 84: 1109-1117.



Production of Rumenobuffer supplement from combination of common buffers and herbs to prevent acidosis using high-concentrate diets in *in vitro* condition

W. Mohamadi Chapdareh¹, M. M. Moeini^{2*}, M. Sori²

1. Former Ph.D Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

(Received: 04-08-2017 – Accepted: 27-05-2018)

Abstract

In this study the possibility of producing a new compound to prevent ruminal acidosis were studied using common buffers, minerals and herbs, based on parameters such as: ability to maintain pH, acidogenic value (AV), amount of *in vitro* dry matter disappearance (IVDMD) and the AV/IVDMD ratio in high-concentrate diet in an *in vitro* batch culture. This study performed in a completely randomized design with four experiments. In the first experiment, the treatments were the buffers (sodium bicarbonate, potassium bicarbonate, magnesium oxide, sodium bentonite and zeolite) in the level of 1% DM of the ration, and the herbs (anise, rosemary, pepper, marjoram, cinnamon and garlic) in the level of 1% DM of the ration and minerals (cobalt, copper, manganese, selenium and zinc) used in one part per million units of the diet. In the second and third experiments, the treatments were the various components of buffers, herbs and minerals, in the level of 1% DM of the ration. The compound 1 (29.5% sodium bicarbonate, 25% magnesium oxide, 18% sodium bentonite, 10% anise, 9% garlic and 8.5% rosemary) had a significant effect on performance in the third experiment which was named "Rumenobuffer". In the fourth experiment, the Rumenobuffer was tested in comparison with sodium bicarbonate and rosemary. The results of the first experiment indicated that sodium bicarbonate, potassium bicarbonate, magnesium oxide and rosemary had significant effects on pH, acidogenic value and IVDMD compared to other treatments ($P < 0.01$). The results of 2nd and 3rd experiment showed that most of the combinations had significant effects on pH, acidogenic value and IVDMD ($P < 0.01$). In conclusion, according to the results of this experiment, Rumenobuffer had less acidogenic value and the AV/IVDMD ratio and with maintaining the pH in the early hours of incubation; it can maintain the pH of the environment at a higher level.

Keywords: Acidity, Sodium bicarbonate, Rumenobuffer, Acidogenic value, Herbs

*Corresponding author: mmoeini@razi.ac.ir