

بررسی ظرفیت بافری چند ترکیب بافری رایج در تغذیه نشخوارکنندگان با استفاده از روش عیارسنجی اسید و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تولید گاز

نسرین مهدوی‌راد^۱، مرتضی چاجی^{۲*}، محمد بوجارپور^۲ و مهدی دهقان‌بنادکی^۳
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه دام و دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
۳. استاد گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۱۵)

چکیده

هدف آزمایش بررسی ظرفیت بافری شماری از بافرها یا قلیایی‌کننده‌ها و تأثیر آن‌ها بر هضم و تخمیر جیره‌های پرکنساتره بود. از غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر انواع بافرها و قلیایی‌کننده‌ها شامل: بی‌کربنات سدیم، سدیم سسکویی کربنات، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم، بنتونیت سدیم، ژئولیت و بافر ترکیبی (۰/۷۵ درصد سدیم سسکویی کربنات + ۰/۷۵ درصد بی‌کربنات سدیم) استفاده شد. pH اولیه محلول بافری، مقدار اسید هیدروکلریک مصرف‌شده برای تغییر ناگهانی pH به ۵/۲ یا زیر آن و pH نهایی ثبت شد. کمترین هیدروکلریک اسید مصرف‌شده برای کاهش ناگهانی pH به ترتیب مربوط به محلول بافری حاوی بنتونیت سدیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و شاهد بود و بیشترین آن برای سطح ۱/۵ و ۲ درصد سدیم سسکویی کربنات، بافر ترکیبی و سطح ۱/۵ و ۲ درصد بی‌کربنات سدیم بود. بافر ژئولیت نیز مقاومت مناسبی در برابر تغییر pH نشان داد و تفاوت معنی‌داری با بافر ترکیبی و یا بافر بی‌کربنات سدیم نداشت. تیمارهای مورد استفاده در آزمایش تولید گاز شامل: جیره شاهد یا پایه بدون افزودن بافر و مقادیر ۰/۵ تا ۲ درصد بی‌کربنات سدیم، ۰/۵ درصد سدیم سسکویی کربنات، ۰/۵ درصد بنتونیت سدیم، ۲ درصد کربنات منیزیم، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد ژئولیت و بافر ترکیبی بود که به جیره پایه افزوده شدند. بیشترین گاز تولیدشده مربوط به بافرهای سدیم سسکویی کربنات، بی‌کربنات سدیم، بافر ترکیبی و ژئولیت بود. بنابراین، از نظر ظرفیت بافری و حجم گاز تولیدشده، سدیم سسکویی کربنات بهترین جایگاه و پس از آن بافر ترکیبی، بی‌کربنات سدیم و ژئولیت نیز بافرهای مناسبی برای استفاده در جیره‌های حاوی مواد متراکم زیاد در تغذیه نشخوارکنندگان ارزیابی شدند.

واژه‌های کلیدی: بی‌کربنات سدیم و ژئولیت، سدیم سسکویی کربنات، ظرفیت بافری، pH.

Investigation the buffering capacity of several conventional buffer compounds in feeding of ruminant animals by acid titration method and their effect on gas production parameters

Nasrin Mahdavi¹, Morteza Chaji^{2*}, Mohammad Bojarpour² and Mahdi Dehghanbanadaki³
1, 2. M.Sc. Student of Animal Nutrition and Associate Professor, Department of Animal Science, Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University, P.O. Box 63517-73637, Mollasani, Ahvaz, Iran
3. Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Nov. 22, 2017 - Accepted: Mar. 6, 2018)

ABSTRACT

The aim of present experiment was to investigate the buffering capacity of some buffers or alkalizers, their effect on digestion and fermentation of high concentration diets. The concentration of 0, 0.5, 1, 1.5, 2 g in 100 ml from different buffers and alkalizing agents including: sodium bicarbonate, sodium sesquicarbonate, magnesium oxide, magnesium carbonate, sodium bentonite, zeolite and combined buffer (0.75% sodium bicarbonate+ 0.75% sodium sesquicarbonate) was used. The initial pH of the buffer solution, the amount of consumed hydrochloric acid for abrupt changes of pH to 5.2 or below it, and the final pH was registered. The lowest amount of the hydrochloric acid was consumed for solutions containing sodium bentonite, magnesium oxide, magnesium carbonate and control for suddenly dropping their pH; and highest amount by sodium sesquicarbonate, combined buffer and sodium bicarbonate, respectively. The zeolite buffer also indicated a proper resistance to pH changes and did not have a significant difference with the combined buffer or sodium bicarbonate buffer. The treatments in gas production were included: control or basal diet without buffer, and amounts of 0.5 to 2% sodium bicarbonate, 0.5 to 2% sodium sesquicarbonate, 0.5% sodium bentonite, 2% magnesium carbonate, 1.5, 2 and 2.5% of zeolite and combined buffer, which were added to basal diet. The highest produced gas was in the sodium sesquicarbonate, sodium bicarbonate, combined buffers and zeolite. Therefore, sodium sesquicarbonate, combined buffers, sodium bicarbonate and zeolite had the best position respectively, which were evaluated as suitable buffers for using in diets containing high concentration ingredients for feeding the ruminant animals.

Keywords: Buffer capacity, pH, sodium sesquicarbonate, sodium bicarbonate, zeolite.

* Corresponding author E-mail: chaji@ramin.ac.ir

مقدمه

بخش بزرگی از مواد متراکم مورد استفاده در تغذیه گاوهای شیرده را غلات، مکمل‌های پروتئینی و یا فرآورده‌های فرعی کشاورزی تشکیل می‌دهند که الیاف کم و انرژی قابل‌هضم بیشتری دارند (Enemark *et al.*, 2009). به‌منظور افزایش تولید شیر نیاز به تغذیه دام با مواد متراکم کربوهیدرات‌های سریع تخمیر و انرژی بالا دارد (Horan *et al.*, 2006; Bargo *et al.*, 2003). تغذیه زیاد مواد متراکم به گاوهای شیرده سبب کاهش pH شکمبه خواهد شد. گاوها می‌توانند با کاهش مصرف خوراک، تغییر در الگوهای خوراک مصرفی، افزایش نشخوار و افزایش جذب اسید از دیواره شکمبه در برابر کاهش pH شکمبه مقاومت کنند، اما در نهایت تغذیه با مواد پراثری دچار اسیدوز خواهند شد (pH شکمبه‌ای ۶/۲ و ۵/۲ به ترتیب برای اسیدوز مزمن و حاد در نظر گرفته می‌شود). بافرهای خوراک به‌طور گسترده‌ای به‌منظور بهبود تأثیر زیانبار اسیدیته در جیره‌های با مواد متراکم بالا استفاده می‌شوند (Marden *et al.*, 2008; Plaizier *et al.*, 2008). بافرها سبب کاهش اسیدیته، افزایش نسبت استات به پروپیونات شده و سبب بهبود هضم الیاف می‌شوند. لذا این عمل سبب افزایش مصرف خوراک و به دنبال آن افزایش تولید شیر و نیز چربی شیر می‌شود (Beauchemin & Yang, 2005).

بافر یک اسید ضعیف و نمک آن یا یک اسید قوی و نمک آن است (Campbell & Farrell, 2006) که در محلول‌های آبی به ثبات و مقاومت شکمبه در برابر تغییر pH هنگامی که جیره‌های با غلات بالا، علوفه کم و یا علوفه خیلی خردشده و سیلویی (سیلاژ) به دام خورانده می‌شود، کمک می‌کنند (Erdman, 1988).

تاکنون مواد شیمیایی زیادی به‌عنوان بافر در تغذیه نشخوارکنندگان آزمایش شده‌اند. افزودن برخی از این بافرها مانند بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم و بی‌کربنات پتاسیم تنها سبب خنثی کردن اسیدیته شکمبه می‌شوند. درحالی‌که برخی بافرها افزون بر این امر سبب افزایش pH شکمبه نیز می‌شوند. بافرهای حقیقی از افزایش اسیدیته جلوگیری می‌کنند، اما pH را از حد معینی بالاتر نمی‌برند. بی‌کربنات سدیم،

سدیم سسکوئی کربنات (Sodium Sesquicarbonate) و بنتونیت سدیم بافرهای حقیقی هستند. ترکیب‌های بازی اسیدیته را کاهش می‌دهند، اما می‌توانند سبب افزایش pH شوند. ترکیب‌های مختلفی که به‌عنوان بافر شناخته شده‌اند، در سیستم گوارشی به‌طور متفاوتی عمل می‌کنند. به‌طور کلی دو سازوکار برای عمل بافرها در شکمبه بیان شده که شامل خنثی کردن اسید و ثبات pH شکمبه و دیگری افزایش میزان عبور مایعات شکمبه است (Erdman, 1988). در رابطه با افزودنی‌هایی که منجر به افزایش pH در شکمبه می‌شوند، رایج‌ترین بافری که در صنعت پرورش گاو شیری استفاده می‌شود، بیکربنات سدیم است، از دیدگاه سوخت‌وساز (متابولیسم) بی‌کربنات سدیم تأثیر زیادی بر تولید اسیدهای چرب فرار ندارد (Askar *et al.*, 2010). اما نسبت استات به پروپیونات را افزایش می‌دهد که این عمل برای تثبیت درصد چربی شیر مطلوب است (Kaplan *et al.*, 2010). به‌طور کلی بی‌کربنات سدیم و سسکوئی کربنات سدیم از جمله بافرهای شکمبه‌ای هستند که با خنثی کردن اسیدهای محیط شکمبه‌ای اسیدیته را در حد مطلوب (۶/۲ تا ۶/۵) نگه می‌دارند (Jones *et al.*, 2016; Santra *et al.*, 2002).

سسکوئی کربنات سدیم مخلوطی از بی‌کربنات سدیم و کربنات سدیم است که به‌عنوان یک بافر قوی و نیز یک قلیایی‌کننده استفاده می‌شود. محققان چندی تأثیر ترکیب بافرها و قلیایی‌کننده‌ها را بررسی کرده‌اند و ترکیب بافر و قلیایی‌کننده‌ها را پیشنهاد کردند (Hutjens, 1996). گزارش شده که سدیم سسکوئی کربنات ظرفیت خنثی‌کنندگی اسید بالاتری در مقایسه با بی‌کربنات سدیم دارد. محققان در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، بافر سدیم سسکوئی کربنات به‌طور مؤثری منجر به افزایش pH مایع شکمبه می‌شود (Le Ruyet & Tucker, 1992).

در مقابل بافرها، مواد قلیایی وجود دارند که خنثی‌کننده اسیدند و pH بالای ۷ دارند و اغلب به‌عنوان موادی که بتوانند یون‌های هیدروژن یا هیدروکسید را بپذیرند شناخته می‌شوند (Schaefer *et al.*, 1982) که از جمله این مواد می‌توان به اکسید

کربنات، بی‌کربنات سدیم، زئولیت نوع کلینوپتیولیت، بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم بودند که به ترتیب با قیمت ۳۱۵۰۰، ۱۵۰۰۰، ۱۳۰۰، ۱۵۰۰ و ۸۵۰۰ ریال به ازای هر کیلوگرم، از کارخانه‌های تولیدکننده آن تهیه شدند.

آزمایش تعیین ظرفیت بافری

در این آزمایش ظرفیت بافری شماری از بافرهای دارای ترکیب‌های کانی تعیین شد. ترکیب‌های کانی مورد آزمایش، متشکل از شش بافر یا قلیایی‌کننده بی‌کربنات سدیم، کربنات منیزیم، اکسید منیزیم، سدیم سسکویی کربنات، زئولیت، بنتونیت سدیم در نسبت‌های ۰ (حاوی آب‌مقطر و بدون افزودن بافر)، ۱/۵، ۱، ۲ درصد و یک مخلوط بی‌کربنات سدیم و سدیم سسکویی کربنات با نسبت ۰/۷۵ + ۰/۷۵ درصد بودند. برای تهیه محلول بافری میزان مورد نظر از بافر (۱/۵ تا ۲ گرم) در استوانه مدرج با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید و محلول بافری تهیه شد. به‌منظور انحلال کامل بافرها، محلول روی گرم‌کن دارای آهن‌ربا قرار داده شد. در حین چرخش، pH اولیه محلول با استفاده از pH متر رومیزی (متروم مدل ۷۴۴، ساخت کشور سوئیس) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد پس از افزودن هر ۱ میلی‌لیتر از هیدروکلریدریک اسید ۱ نرمال (۸/۸۲ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک اسید غلیظ یا یک عدد تیترازول ۱ نرمال با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده شد) به هرکدام از محلول‌های بافر دوباره pH ثبت شد؛ بنابراین میزان pH اولیه محلول بافری، هیدروکلریدریک اسید مصرف‌شده برای تغییر ناگهانی pH به ۵/۲ یا زیر آن (Li) (et al., 2013; Plaizier et al., 2008) و pH نهایی محلول بافری ثبت شد (Kohn et al., 1998).

آزمایش تولید گاز

به‌منظور تعیین حجم گاز تولیدی و فراسنجه‌های گاز جیره‌های آزمایشی از روش تولید گاز استفاده شد. تیمارهای مورد استفاده در این مرحله از آزمایش شامل چهارده جیره بودند. جیره آزمایشی شامل: ۱- شاهد (۶۰ درصد کنسانتره و ۴۰ درصد علوفه، بدون مکمل بافری)، ۲- جیره شاهد + سطح ۰/۵ درصد بنتونیت

منیزیم و کربنات سدیم اشاره کرد (Arambel et al., 1988). نیاز گاو شیری به بافر بستگی به میزان ترشح بزاق و میزان بافر موجود در بزاق، ظرفیت بافری خوراک، پتانسیل تولید اسید توسط جیره و اسیدیته جیره دارد. افزودن بافر هنگامی اهمیت می‌یابد که میزان بافر بزاق و ظرفیت بافری مواد خوراکی خورده شده پائین باشد.

به‌طورکلی ظرفیت بافری یک بافر بیانگر میزان توانایی بافر برای مقاومت در برابر تغییرپذیری pH است و با افزایش غلظت بافر در محیط ظرفیت بافری آن بالاتر می‌رود. هرچه pH بافر به pK_a نزدیک‌تر باشد توانایی بافر بیشتر است یا به اصطلاح ظرفیت بافری بالاتری دارد (Tucker et al., 1992; Kianoosh, 2012).

با توجه به اینکه انجام آزمایش با موجود زنده (*in vivo*) برای بررسی‌های تغذیه‌ای در نشخوارکنندگان وقت‌گیر، سخت و هزینه‌بر است و به میزان زیادی خوراک نیاز دارد. بنابراین، از روش تولید گاز برای ارزیابی ارزش انرژی‌زایی مواد خوراکی و بررسی تأثیر مواد ضد تغذیه‌ای و افزودنی‌ها بر توان انرژی‌زایی و قابلیت هضم مواد خوراکی، عملکرد و جمعیت ریزجانداران (میکرواورگانیسم‌های) شکمبه استفاده می‌شود (Menke & Steingass, 1988).

اگرچه استفاده از بافر و خنثی‌کننده‌های اسید در تغذیه دام از مدت‌ها پیش مرسوم شده و تحقیقات ثابت کرده افزودن بافر به جیره موجب تعدیل تأثیر منفی جیره‌های با درصد کنسانتره بالا می‌شود، اما شمار محدودی بافر که متداول‌ترین آن‌ها بی‌کربنات سدیم است، بیشتر استفاده می‌شوند که این موضوع سبب افزایش قیمت آن‌ها شده است. لذا، شاید بتوان از بافرهایی با کارایی همسان اما ارزان‌تر در تغذیه بهره برد. برای این منظور باید اطلاعات مقایسه‌ای از ظرفیت بافری قلیا کننده‌ها یا بافرها وجود داشته باشد؛ بنابراین در این آزمایش برای تعیین و مقایسه ظرفیت بافری شماری از بافرهای موجود در کشور انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه بافرها و قلیایی‌کننده‌ها

مکمل‌های مورد آزمایش شامل: سدیم سسکویی

شد. در این رابطه، P تولید گاز در زمان t تولید گاز از بخش توان تخمیر (میلی‌لیتر)، c میزان ثابت تولید گاز (میلی‌لیتر در ساعت) و t زمان انکوباسیون دارد. داده‌های این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS (2001) و برپایش $9/2$ تجزیه آماری قرار شدند و میانگین تیمارها توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد مقایسه شدند. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار اکسل و از مدل آماری زیر برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد:

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

در این رابطه، Y_{ij} : میزان مشاهده شده، μ : میانگین جامعه، T_i : اثر تیمار i ، ε_{ij} : اثر باقیمانده (خطای آزمایش) بودند.

نتایج و بحث

از نظر pH اولیه محلول، بین بافرها تفاوت معنی‌داری وجود داشت و pH محلول بافری سدیم سسکوئی کربنات به‌طور معنی‌داری بیشتر از دیگران بود (جدول ۱). بیشترین و کمترین میزان pH اولیه (بدون افزودن هیدروکلریدریک اسید) به ترتیب مربوط به محلول بافری سدیم سسکوئی کربنات و شاهد (به ترتیب $10/25$ و $6/25$) بود ($P < 0/05$). مخلوط بافری حاوی سدیم سسکوئی کربنات+ بی‌کربنات سدیم پس از سدیم سسکوئی کربنات بالاترین pH اولیه را داشت که تفاوت آن نسبت به دیگر بافرها معنی‌دار شد. بنتونیت سدیم و بی‌کربنات سدیم نیز رتبه‌های بعدی را داشتند که تفاوت معنی‌داری با دیگر بافرها داشتند ($P < 0/05$).

سدیم، جیره‌های ۳ تا ۶- به ترتیب شامل جیره شاهد+سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ درصد سدیم سسکوئی کربنات، جیره‌های ۷ تا ۹- به ترتیب شامل جیره شاهد+سطوح ۱، ۱/۵ و ۲ درصد بی‌کربنات سدیم، ۱۰- جیره شاهد+سطوح ۲ درصد کربنات منیزیم، ۱۱- جیره شاهد+بافر ترکیبی (۰/۷۵) درصد سدیم سسکوئی +۰/۷۵ درصد بی‌کربنات سدیم، جیره‌های ۱۲ تا ۱۴- به ترتیب شامل جیره شاهد + سطوح ۱/۵، ۲ و ۲/۵ درصد زئولیت بود. اجزای خوراکی جیره پایه مورد استفاده شامل کنجاله سویا (۱۶ درصد)، دانه جو (۱۸ درصد) سیلاژ ذرت (۲۸ درصد)، سبوس گندم (۶/۲۰ درصد)، دانه ذرت (۱۹ درصد)، کاه گندم (۱۲ درصد)، نمک (۰/۲ درصد) و مکمل کانی- ویتامینی (۰/۶ درصد) بود.

تخمیر و تولید گاز نمونه‌های آزمایشی (برای هر تیمار چهار تکرار) با استفاده از روش Menke & Steingass (1988) در ویال‌های شیشه‌ای ۱۰۰ میلی‌لیتری که حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه آسیاب شده، ۲۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی و ۱۰ میلی‌لیتر مایع شکمبه بود، اندازه‌گیری شد. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند گرفته و با حجم مناسب از بزاق (نسبت ۲ به ۱) مخلوط شد. شیشه‌ها در حمام آب گرم (۳۹ درجه سلسیوس) قرار داده شدند. فشار گاز تولیدشده در زمان‌های ۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت به‌وسیله دستگاه فشارسنج دیجیتال ثبت شد. پس از تبدیل فشار به گاز، تجزیه و تحلیل داده‌های تولید گاز با کمک معادله نمایی Orskov & McDonald (1979) با رابطه $P = b(1 - e^{-ct})$ محاسبه

جدول ۱. بررسی ظرفیت بافری با افزودن اسید هیدروکلریدریک (میلی‌لیتر) به محلول بافری برای کاهش pH به ۵/۲
Table 1. Investigation of buffering capacity by adding hydrochloric acid (ml) to buffer solution for reducing pH to 5.2

Item	Initial pH of solution*	The final pH	Amount of hydrochloric acid consumption (ml)	Difference of pH (Initial and final)
Control [†]	6.25 ^t	2.27 ^c	1 ^c	3.98 ^{ab}
Bentonite sodium	9.09 ^c	3.69 ^{uc}	1 ^c	5.34 ^a
Zeolite	7.70 ^c	4.13 ^{bac}	13.75 ^p	3.76 ^{ab}
Sodium Bicarbonate	8.29 ^u	4.83 ^{au}	18 ^{au}	3.29 ^u
Magnesium oxide	7.84 ^c	2.77 ^{uc}	1 ^c	5.69 ^a
Magnesium carbonate	7.69 ^c	3.17 ^{cuc}	1 ^c	3.27 ^{ab}
Sodium sesquicarbonate	10.25 ^a	5.23 ^a	24.25 ^a	4.98 ^{au}
Sodium Bicarbonate + Sodium Sesquicarbonate	9.51 ^p	5.07 ^a	22 ^{ab}	4.44 ^{ab}
SEM	0.13	0.42	2.97	0.63
P-value	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

* The pH without adding hydrochloric acid

[†] Distilled water (Without adding Buffer)

SEM: Standard error of means

Within column, means by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

بافری کمتری بروز دادند به طوری که با اضافه کردن ۱ میلی لیتر هیدروکلریدریک اسید به محیط مقاومت کمتری در برابر خنثی سازی یون H^+ از خود نشان دادند و به سرعت pH محیط را کاهش دادند که این امر ظرفیت بافری کمتر آن‌ها را در مقایسه با دیگر بافرهای مورد استفاده نشان داد. در مقابل، بافرهایی مانند بی کربنات سدیم، سدیم سسکوئی کربنات و زئولیت با مصرف یون H^+ تولیدی اضافی سبب می شوند pH محلول تغییر چندانی نکند، ظرفیت بافری بالایی دارند. از سویی با افزودن اسید به محلول، pH آن کاهش می یابد زیرا بر شمار یون‌های هیدروژن آن افزوده می شود که بنابراین برخی از بافرها همانند بی کربنات سدیم می توانند در برابر اسید هیدروکلریدریک عمل بافری داشته باشند و سبب شوند یون H^+ اضافی که در نتیجه اسید هیدروکلریدریک ایجاد شده از محلول جدا و با تشکیل اسید کربنیک از اسیدی شدن محلول جلوگیری کنند. به عبارتی بی کربنات سدیم ($NaHCO_3$) یکی از نمک‌های سدیم در ترکیب با کربنیک اسید است که تنها یک هیدروژن اسیدی این ترکیب با سدیم جایگزین شده است.

بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم ظرفیت بافری پایینی در مقایسه با بی کربنات سدیم، زئولیت و سدیم سسکوئی کربنات داشتند. بنابر تحقیقات انجام شده، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم ترکیب‌هایی قلیاکننده به شمار می آیند که برخلاف بافرها نمی توانند محلول را به سمت یک pH مشخص هدایت کنند و از تغییرپذیری pH جلوگیری کنند. در مقابل، بافرها، pH را نزدیک به محدوده pK_a اسید ثابت نگه خواهند داشت، یک بافر خوب ظرفیت بافری مناسبی دارد و باید pH ثابت را در مدت زمان بیشتری حفظ کند همانند هنگامی که یون‌های هیدروژن بیشتری با افزودن اسید یا باز، آزاد می شوند. موافق این نتایج Kianoosh *et al.* (2012) نیز ظرفیت بافری بنتونیت سدیم (۴ درصد ماده خشک) را به تنهایی و یا به همراه بی کربنات سدیم (۱ درصد ماده خشک) با استفاده از روش عیارسنجی با اسید اندازه گیری کردند که به طور نسبی ظرفیت بافری بالاتری برای بی کربنات

کمترین میزان هیدروکلریدریک اسید مصرف شده مربوط به محلول بافری حاوی بنتونیت سدیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و شاهد بود، به طوری که پس از افزودن تنها ۱ میلی لیتر هیدروکلریدریک اسید ۱ نرمال به این محلول‌های بافری، pH اولیه به طور ناگهانی کاهش یافت. بیشترین میزان هیدروکلریدریک اسید مصرف شده برای تغییرپذیری ناگهانی pH به ۵/۲ یا مقادیر کمتر از آن مربوط به محلول بافری حاوی سدیم سسکوئی کربنات بود که تفاوت معنی داری با محلول حاوی بنتونیت سدیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و شاهد داشت؛ اما از بافر ترکیبی سدیم (سسکوئی کربنات + بی کربنات سدیم) و یا بافر بی کربنات سدیم تنها از نظر عددی بیشتر بود و تفاوت معنی دار نبود. محلول بافری زئولیت نیز مانند بی کربنات سدیم و بافر ترکیبی (سدیم سسکوئی کربنات + بی کربنات سدیم) قابلیت مناسبی برای مقاومت در برابر تغییرپذیری pH حین افزودن هیدروکلریدریک اسید به محیط داشت و تفاوت معنی داری با این بافرها نداشت. از لحاظ pH نقطه پایانی بالاترین pH مربوط به محلول بافری سدیم سسکوئی کربنات بود، به طوری که با افزودن ۲۴/۲۵ میلی لیتر هیدروکلریدریک اسید به محلول حاوی این بافر، pH نقطه پایانی به ۵/۲۳ یا آستانه اسیدوز حاد رسید (Li *et al.*, 2013; Plaizier *et al.*, 2008)، اما بین این بافر با محلول‌های بافری حاوی سدیم سسکوئی کربنات + بی کربنات سدیم، بی کربنات سدیم و زئولیت تفاوتی وجود نداشت، هر چند تفاوت این بافرها با شاهد معنی داری شد ($P < 0.05$). کمترین pH نهایی نیز مربوط به شاهد بود. بیشترین تفاوت pH اولیه و نهایی مربوط به اکسید منیزیم بود که تنها نسبت به بافر بی کربنات تفاوت معنی دار داشت.

اگرچه بافرها در مقابل افزایش اسید یا باز مقاومت می کنند، ولی هر بافر ظرفیت معینی داشته و بیشتر از آن قادر به مقاومت در مقابل تغییرپذیری pH نیست. بنابر، این تعریف، نتایج عیارسنجی (تیتراسیون) با اسید بافرهایی مانند بنتونیت سدیم، اکسید منیزیم و کربنات منیزیم نشان داد، اگرچه ترکیب‌های کانی بالا، در آغاز pH به نسبت بالایی داشتند، ولی خاصیت

سدیم در مقایسه با بنتونیت سدیم گزارش کردند، به این دلیل که بافرهایی مانند بنتونیت سدیم در مقایسه با بی‌کربنات سدیم حلالیت کمتری دارند. در این بررسی سدیم سسکوئی کربنات بالاترین ظرفیت بافری را داشت. موافق این نتایج، Le Ruyet & Tucker (1992) اثر ظرفیت بافری و pH مایع شکمبه گاوهای تغذیه شده با کنسانتره بالا را در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از چندین نوع از کربنات و بی‌کربنات‌ها با اکسید منیزیم مقایسه کردند که تیمارهای حاوی سدیم سسکوئی کربنات و بی‌کربنات سدیم پس از ۱۲ ساعت انکوباسیون بیشترین میزان ظرفیت بافری و pH مایع شکمبه را به خود اختصاص دادند. لذا، نتیجه‌گیری کردند که بی‌کربنات سدیم و سدیم سسکوئی کربنات به سرعت مایع شکمبه را بافری کرده و می‌توانند در جلوگیری از افزایش H^+ مایع شکمبه پس از مصرف خوراک سودمند باشند. برخلاف نتایج این آزمایش، Tucker *et al.* (1992) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند. ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری بی‌کربنات سدیم در مقایسه با سدیم سسکوئی کربنات بیشتر و غلظت یون هیدروژن مایع شکمبه برای هر دو بافر همسان است.

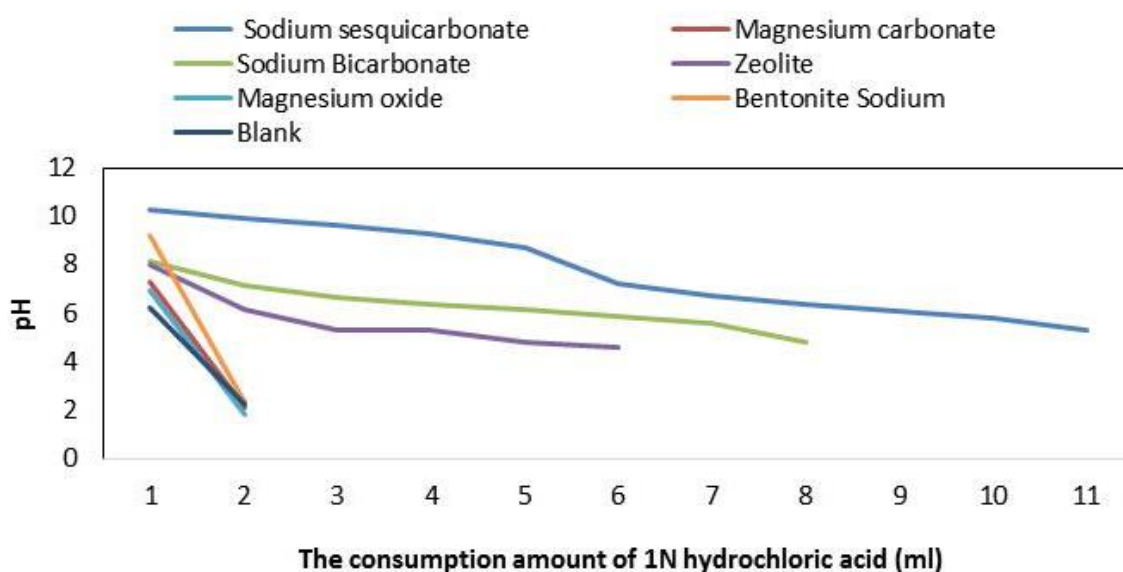
بنابر تعریف، ظرفیت بافری را به صورت میلی‌اکی‌والان H^+ مورد نیاز برای کاهش pH از ۷ به ۵ محاسبه می‌کنند و بنابر رابطه هندرسون-هاسلباخ در pH برابر ۷، سدیم سسکوئی کربنات ($NaCO_3^-$) حاوی ۰/۰۷ درصد CO_3^- ، $NaHCO_3-2H_2O$ حاوی ۱۳/۶۸ درصد H_2CO_3 بر پایه مولار است؛ از این رو، در طول افزودن اسید برای کاهش pH تا ۷ بیشتر ترکیب‌های بافری از CO_3^{+2} به HCO_3^- تبدیل خواهند شد که این HCO_3^- به ظرفیت بافری برای تثبیت pH کمک می‌کند. از سویی بخش Na_2CO_3 در سدیم سسکوئی کربنات حاوی ۲ مول Na و ۱ مول CO_3 و بی‌کربنات سدیم حاوی تنها ۱ مول Na و ۱ مول هیدروژن به ازای CO_3 است؛ بنابراین، بی‌کربنات سدیم حاوی بیش از ۲۶ درصد CO_3 در هر واحد وزن نسبت به Na_2CO_3 است که از اجزای اصلی سدیم سسکوئی کربنات است. احتمال دارد در طول کاهش pH مایع شکمبه به ۷ همه CO_3^{2-} ها

بایستی به HCO_3^- تبدیل شوند که بی‌کربنات سدیم میزان HCO_3^- بیشتری را نسبت به سدیم سسکوئی کربنات در هنگام کاهش pH از ۷ به ۵ فراهم می‌کند؛ بنابراین با توجه به مطالب بالا یکی از دلایل احتمالی این تناقض می‌تواند غلظت، میزان خلوص سدیم سسکوئی کربنات مورد استفاده و شرایط انجام آزمایش باشد به طوری که نتایج این آزمایش نشان داد، بافر نامبرده در مقایسه با بی‌کربنات سدیم و دیگر بافرهای مورد استفاده ظرفیت بافری بالاتری دارد. در این بررسی، پس از سدیم سسکوئی کربنات، بافر ترکیبی (سسکوئی کربنات + بی‌کربنات سدیم) و بی‌کربنات سدیم بیشترین ظرفیت بافری را به خود اختصاص دادند. موافق نتایج این آزمایش، Thomas *et al.* (1984) طی آزمایشی نشان دادند، ترکیب بی‌کربنات سدیم به همراه اکسید منیزیم در مقایسه با بی‌کربنات سدیم به تنهایی نتایج بهتری را از نظر خاصیت بافری در پی دارد. همچنین Hoor *et al.* (2013) در بررسی آزمایشگاهی به منظور تعیین ظرفیت بافری و ارزش اسیدزایی جیره‌های حاوی مقادیر متفاوت بافرها به این نتیجه رسیدند، مخلوط بافری که بیشترین میزان بی‌کربنات سدیم را داشته بالاترین میزان pH و ظرفیت بافری را داشت؛ که در راستای نتایج Jafarpour Boroujeni *et al.* (2015) بود. نتایج آنان نیز نشان داد، مخلوط ترکیب‌های کانی (بی‌کربنات سدیم، کربنات سدیم، کربنات کلسیم، کربنات منیزیم، اکسید منیزیم و بنتونیت سدیم) در نسبت‌های به ترتیب ۱، ۱، ۰/۴، ۰/۱۸، ۰/۲ و ۰/۲ و ترکیب ۱، ۰/۶۶، ۰/۵، ۰/۳۳ و ۰/۱۶ درصد بیشترین ظرفیت بافری را دارند که به خوبی توانستند میزان بار اسیدی را کاهش دهند. به عبارتی در تأیید نتایج به دست آمده می‌توان گفت عامل‌های بافری که pK_a بالاتری دارند بیشتر به عنوان عامل‌های قلیایی‌کننده در pH مایع شکمبه عمل می‌کنند و آن‌ها در حقیقت سبب افزایش مقاومت شکمبه به تغییرپذیری pH خواهند شد. از سویی Kohn *et al.* (1998) در نتایج بررسی‌های خود نیز بیان کردند، بی‌کربنات سدیم و کربنات منیزیم هر دو توانایی بالایی در حفظ pH خنثی با افزودن مستمر اسید در

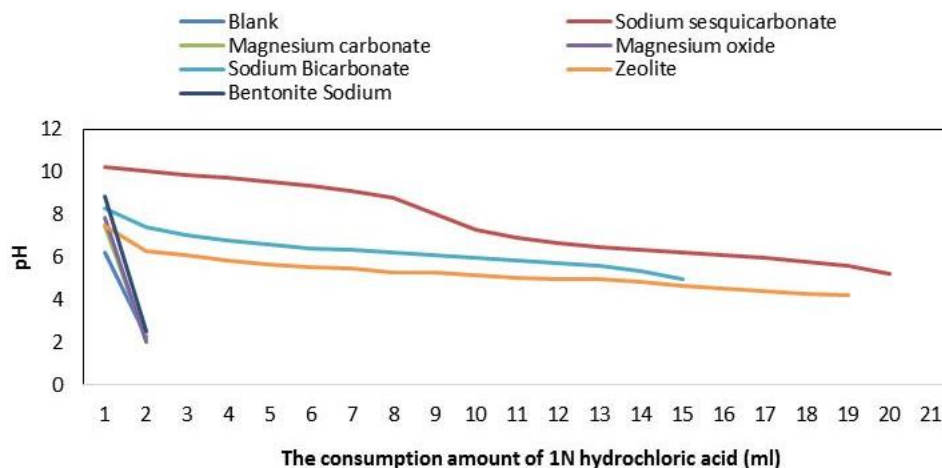
اتم اکسیژن و یک اتم هیدروژن که با پیوند کووالانسی به هم متصل شده‌اند، تشکیل شده است. مثال $(H-O^-)$ به تنهایی و در ترکیب، بافرهای ضعیفی هستند، چراکه سبب تغییرپذیری شدید pH بی‌درنگ پس از افزودن به مایع شکمبه می‌شوند. با ترکیب صحیح کربنات‌ها و بی‌کربنات‌ها آنیون‌های مؤثر امیدوارکننده‌ای بودند؛ که نتایج این محققان با این نتایج همخوانی داشت. از سویی بر پایه پژوهش‌های این محققان سدیم و بافرهای حاوی سدیم بهترین نوع بافرها هستند.

میزان بافر مورد نیاز در جیره گاوهای شیرده تابعی از میزان ترشح بافر بزاقی، ظرفیت بافری خوراک و ارزش اسیدزایی خوراک، میزان مصرف خوراک، ماده آلی قابل‌هضم و میزان لیف (فیبر) مؤثر خوراک است. افزودن بافر هنگامی اهمیت می‌یابد که میزان بافر تولیدشده در بزاق و همچنین ظرفیت بافری مواد خوراکی خورده‌شده پائین باشد. بافرهای خوراکی به‌طور گسترده‌ای به‌منظور بهبود تأثیر زیانبار اسیدیته در جیره‌های با مواد متراکم بالا استفاده می‌شوند، اما پاسخ به بافرها متغیر و غیرقابل‌پیش‌بینی است (Erdman *et al.*, 1988). لذا شاید یکی از علل تفاوت بین نتایج آزمایش‌های مختلف را بتوان به تفاوت در ترکیب جیره‌هایی که بافر در آن‌ها استفاده می‌شود مرتبط دانست.

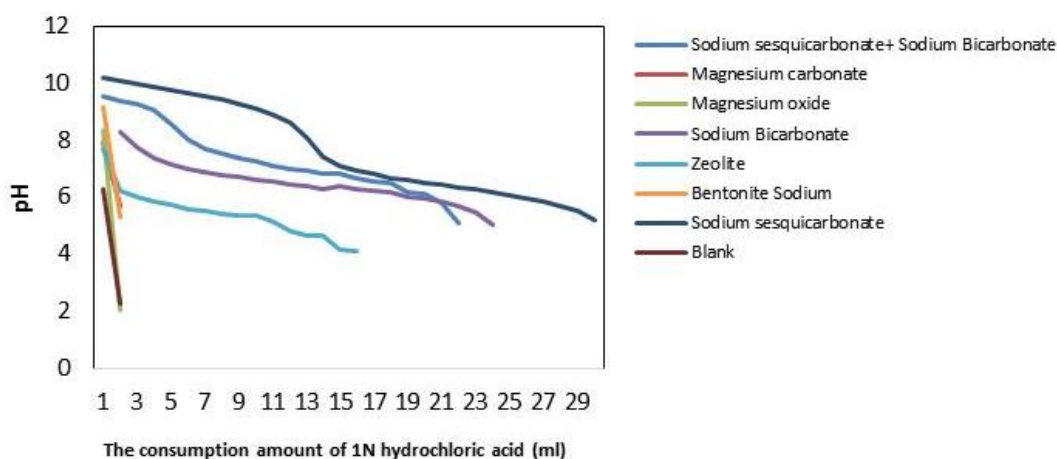
واکنش عیارسنجی نشان دادند، البته نتایج این محققان در مورد کربنات منیزیم با نتایج این آزمایش مغایرت داشت؛ زیرا نتایج این آزمایش نشان داد، کربنات منیزیم ظرفیت بافری کمی دارد. همچنین بررسی‌های برون تنی دیگری نشان داده است، افزودن بی‌کربنات سدیم می‌تواند ظرفیت بافری مایع شکمبه‌ای را افزایش داده و از کاهش pH جلوگیری کند (Herod *et al.*, 1978; Le Ruyet & Tucker, 1992). به عبارتی بی‌کربنات سدیم قادر است یون هیدروژن در دسترس را محدود کند و یک نقطه تعادل از pKa نزدیک به pH مطلوب (۶/۲ تا ۶/۸) در شکمبه داشته باشد. در آزمایشی Herod *et al.* (1978) جیره حاوی حدود ۳۵ ماده کانی را در شرایط آزمایشگاهی با مایع شکمبه گاوهای تغذیه‌شده با کنسانتره بالا ارزیابی کردند. بر پایه نتایج پژوهش‌های آنان افزودن بر بنتونیت، کربنات کلسیم، کربنات منیزیم، بی‌کربنات پتاسیم و بی‌کربنات سدیم، میزان pH را به‌صورت قابل‌اندازه‌گیری تغییر ندادند و یک ظرفیت مناسب خنثی‌کنندگی اسید پس از شش ساعت از خود نشان دادند، بنابر نتایج آنان اکسیدها (یک ترکیب شیمیایی است که از یک یا چند اتم اکسیژن و یا عنصرهای دیگر مانند CO_2 تشکیل شده است) و هیدروکسیدها (یک آنیون دو اتمی با یک بار منفی است که از یک



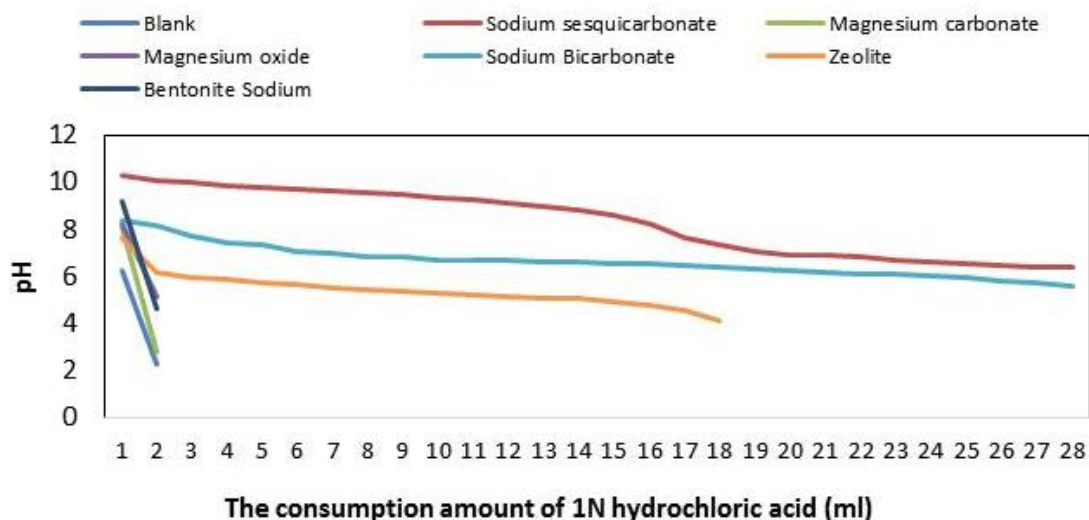
شکل ۱. مقایسه ظرفیت بافری سطح ۰/۵ درصد بافرها با استفاده از عیارسنجی اسید
Figure 1. Comparison buffer capacity of 0.5% level using acid titration



شکل ۲. مقایسه ظرفیت بافری سطح ۱ درصد بافرها با استفاده از عیارسنجی اسید
Figure 2. Comparison buffer capacity of 1% level using acid titration



شکل ۳. مقایسه ظرفیت بافری سطح ۱/۵ درصد بافرها با استفاده از عیارسنجی اسید
Figure 3. Comparison buffer capacity of 1.5% level using acid titration



شکل ۴. مقایسه ظرفیت بافری سطح ۲ درصد بافرها با استفاده از عیارسنجی اسید
Figure 4. Comparison buffer capacity of 2% level using acid titration

گاز تولیدی را داشتند؛ اما از زمان ۸ به بعد تا انتهای انکوباسیون (زمان ۹۶ ساعت) بالاترین میزان گاز مربوط به تیمار ۵ (حاوی ۱/۵ درصد سدیم سسکویی کربنات) بود. از زمان ۶ تا زمان انتهایی، تیمار ۱۴ (حاوی ۲/۵ درصد زئولیت) کمترین میزان تولید گاز را داشت. پس از گذشت ۹۶ ساعت از انکوباسیون حجم گاز تولیدشده در تیمار ۵ (حاوی ۱/۵ درصد سدیم سسکویی کربنات)، ۶ (حاوی ۲ درصد سدیم سسکویی کربنات)، ۸ (حاوی ۱/۵ درصد سدیم بی کربنات)، ۱۱ (حاوی ترکیب سدیم سسکویی کربنات+ بی کربنات سدیم)، ۱۲ (حاوی ۱/۵ درصد زئولیت) و ۱۳ (حاوی ۲ درصد زئولیت) به طور معنی داری بالاتر از تیمار شاهد بود. جز تفاوت بین تیمار ۱۱ با ۵، بین دیگر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد (جدول ۲).

نتایج به دست آمده از این بخش از آزمایش با نتایج به دست آمده از ظرفیت بافری همخوانی داشت. بافر سدیم سسکویی کربنات، ترکیب سدیم سسکویی کربنات+ بی کربنات سدیم، زئولیت و بی کربنات سدیم در روش عیارسنجی با اسید بیشترین ظرفیت بافری را به خود اختصاص داده بودند که در این مرحله از آزمایش نیز طی ۹۶ ساعت انکوباسیون شکمبه‌ای در مقایسه با دیگر تیمارها منجر به تولید گاز بیشتری شدند.

از زمان ۶ به بعد، حجم گاز تولیدی در تیمار حاوی ۱/۵ درصد بی کربنات سدیم (جیره ۸) در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت که با نتایج Patra & Yu (2013) و Qiao et al. (2015) و Jafarpour & Boroujeni et al. (2016) همخوانی داشت. در تحقیقی Qiao et al. (2015) تأثیر افزودن بی کربنات و هیدروژن را بر تخمیر شکمبه‌ای و تولید متان با استفاده از روش تولید گاز بررسی کردند، بر پایه یافته‌های آنان، افزودن بی کربنات سدیم به جیره تأثیر معنی داری بر تولید متان و تخمیر شکمبه‌ای داشت. دیگر محققان نیز در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، بی کربنات سدیم می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی بر تولید گاز اثرگذار باشد (Patra & Yu, 2013). افزایش تولید متان با افزودن بی کربنات سدیم ممکن است ناشی از pH بالای آن باشد که تا حدی امکان دارد با جمعیت پروتوزوایی و متانوژن‌ها در

شکل‌های بالا (۱ تا ۴) بیانگر تعیین ظرفیت بافری برخی از بافرها و قلیایی‌کننده‌ها است. با توجه به این شکل‌ها مشخص می‌شود سدیم سسکویی کربنات، بافر ترکیبی، بی کربنات سدیم و زئولیت به ترتیب بیشترین میزان ظرفیت بافری را داشتند، به این معنی که بافرها و قلیاکننده‌های نامبرده شده، هنگام اضافه کردن اسید هیدروکلریدریک به محلول بافری تغییرپذیری‌های pH قابل توجهی نشان ندادند. به اصطلاح در مقابل تغییرات pH از خود مقاومت نشان دادند و در مدت زمان طولانی تری قادر به حفظ و تثبیت pH در مقابل اسید اضافه‌شده به محیط بافری بودند (pH را تا حدودی در میزان $pH \leq 5/2$ تثبیت کردند). دیگر بافرها یا قلیاکننده‌ها مانند بنتونیت سدیم، اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و شاهد (بدون بافر) بر اثر اعمال همان تغییرپذیری‌ها، تغییرپذیری‌های pH بیشتری از خود نشان دادند، به طوری که میزان کاهش ناگهانی pH در برابر تغییرپذیری‌های میزان اسید هیدروکلریدریک در مورد بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم بیشتر بود که این امر با توجه به میزان حلالیت و غلظت اجزای سازنده این مواد قابل توجیه است. بنابر گزارش‌های Le Ruyet & Tucker (1992) ظرفیت خنثی‌سازی اسید می‌تواند به طور معنی داری با تفاوت در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بافرها و قلیایی‌کننده‌های جیره تغییر کند. برخی بافرها یا قلیاکننده‌ها ظرف چند دقیقه پس از ورود به شکمبه حل می‌شوند، برخی دیگر به آرامی حل شده به طوری که تا حد زیادی پیش از حل شدن، از شکمبه عبور می‌کنند. در حالت مطلوب بافر یا قلیایی کننده یا باید زمان تولید شدیدترین اسید در شکمبه، آزاد شوند و یا اینکه انتشاری مداوم برای پیشگیری از افزایش پروتون‌های آزاد ناشی از تخمیر و غلظت H^+ زیانبار ناشی از هضم را فراهم کنند.

تولید گاز جیره‌های حاوی بافرهای مختلف

به غیر از ساعت ۲ انکوباسیون، در دیگر زمان‌ها، از نظر آماری تفاوت معنی داری بین جیره‌های آزمایشی وجود داشت ($P < 0/05$). پس از ۴ ساعت انکوباسیون، تیمار ۹ (حاوی ۲ درصد بی کربنات سدیم) پایین‌ترین و تیمار ۱۲ (حاوی ۱/۵ درصد زئولیت) بالاترین میزان

تفاوتی نداشت. نرخ تولید گاز در تیمار ۷ (۱ درصد بی‌کربنات سدیم) بالاترین میزان و در تیمار ۱۴ (حاوی ۲/۵ درصد زئولیت) پایین‌ترین بود ($P < 0.05$). همسان با نتایج این آزمایش، در آزمایشی که تأثیر منابع مختلف زئولیت (کلینوپتیولیت ۱، کلینوپتیولیت ۲، هیولاندیت و A) بر فراسنجه‌های تخمیری شکمبه در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده بود (Karimizandi *et al.*, 2010)، زئولیت‌ها به‌جز کلینوپتیولیت ۲ میزان ظرفیت تولید گاز را در مقایسه با گروه شاهد افزایش دادند، اما تأثیری بر نسبت و میزان تولید گاز در مقایسه با گروه شاهد نداشتند. بنابر نتایج این آزمایش، در تحقیق Khalifeh *et al.* (2012) که تأثیر افزودن ۲ و ۴ درصد جی باند (بنتونیت سدیم) به جیره‌های حاوی ۵۰:۵۰ کنسانتره و علوفه در شرایط آزمایشگاهی را بررسی کرده بودند، ظرفیت تولید گاز پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت؛ اما برخلاف نتایج این آزمایش نسبت و میزان تولید گاز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار گرفت.

ارتباط باشد (Aguerre *et al.*, 2011). یکی از عامل‌های بازدارنده رشد بسیاری از گونه‌های باکتریایی نبود یون بی‌کربنات (HCO_3^-) است، زیرا بسیاری از سویه‌های باکتریایی از این یون برای تولید شکل فعال دی‌اکسید کربن (CO_2) استفاده می‌کنند (Bonsembiant *et al.*, 1992). اضافه کردن بی‌کربنات سدیم منجر به تجزیه آن به Na^+ و HCO_3^- می‌شود که قسمتی از HCO_3^- به H_2CO_3 تبدیل شده و پس از آن به‌صورت CO_2 رها می‌شود؛ در نتیجه CO_2 حاصل برای تولید متان مورد استفاده باکتری‌های تولیدکننده متان قرار می‌گیرد (Garcia Gonzalez *et al.*, 2006; Tucker *et al.*, 1992).

بنابر جدول ۳ بیشترین میزان ظرفیت تولید گاز در تیمار ۶ (حاوی ۲ درصد سدیم سسکوئی کربنات) مشاهده شد که به‌جز تیمار شاهد، ۳ (حاوی ۰/۵ درصد سدیم سسکوئی کربنات) و ۱۰ (حاوی ۲ درصد کربنات منیزیم) با دیگر تیمارها تفاوت معنی‌داری نداشت. از سویی کمترین آن در تیمار ۳ (حاوی ۰/۵ درصد سدیم سسکوئی کربنات) مشاهده شد که با شاهد و تیمار ۱۰

جدول ۲. تعیین سطح مناسب بافر در جیره با استفاده از حجم گاز تولیدشده (میلی‌لیتر) پس از ۹۶ ساعت انکوباسیون

Table 2. The determining the appropriate buffer level in the diet by using the volume of produced gas (ml) after 96 hours incubation

Treatments	Gas production in different hours (ml)									
	2	4	6	8	10	12	24	48	72	96
1	0.47	4.04 ^b	8.30 ^{abc}	13.71 ^{bcdef}	26.83 ^{cdef}	34.78 ^{defg}	61.66 ^{cde}	88.94 ^{cdef}	117.00 ^{efg}	136.39 ^{ef}
2	0.29	3.45 ^b	7.63 ^{abc}	11.34 ^f	23.50 ^{def}	34.98 ^{edfg}	54.40 ^{defg}	83.39 ^{defg}	112.86 ^{fg}	136.43 ^{ef}
3	0.73	3.25 ^b	7.69 ^{abc}	16.31 ^{abcde}	28.25 ^{bcde}	44.27 ^{bcde}	69.31 ^{bcd}	93.58 ^{dc}	119.12 ^{defg}	138.01 ^{ef}
4	0.32	3.03 ^b	6.66 ^{bc}	11.52 ^f	22.87 ^f	37.45 ^{cdef}	60.78 ^{cde}	86.41 ^{defg}	113.83 ^{efg}	138.91 ^{ed}
5	0.73	4.10 ^b	9.68 ^{ab}	20.68 ^a	38.67 ^a	61.63 ^a	88.40 ^a	124.71 ^a	160.22 ^a	182.91 ^a
6	1.39	4.60 ^{ab}	10.71 ^a	19.28 ^a	28.82 ^{bcde}	41.80 ^{bcde}	62.12 ^{cde}	100.84 ^{bcd}	138.44 ^{cd}	162.39 ^{abc}
7	0.47	3.82 ^b	7.63 ^{abc}	12.63 ^{cdef}	23.22 ^{ef}	28.44 ^{gf}	46.07 ^f	72.61 ^{fg}	102.77 ^{fg}	126.68 ^{ef}
8	0.32	3.65 ^b	8.80 ^{abc}	18.16 ^{ab}	32.93 ^{abc}	52.08 ^{ab}	78.34 ^{ab}	115.16 ^{ab}	147.50 ^{ab}	167.83 ^{ab}
9	0.25	2.77 ^b	6.97 ^{bc}	11.61 ^{def}	20.97 ^{ef}	32.75 ^{efg}	50.90 ^{ef}	76.90 ^{efg}	105.41 ^{fg}	130.03 ^{ef}
10	0.47	3.86 ^b	7.97 ^{abc}	17.05 ^{abc}	31.85 ^{abc}	47.14 ^{bc}	65.48 ^{bcde}	92.92 ^{cde}	122.29 ^{cdet}	144.87 ^{cde}
11	0.43	3.45 ^b	8.74 ^{abc}	17.88 ^{ab}	31.29 ^{abcd}	45.96 ^{bcd}	73.35 ^{bc}	113.95 ^{ab}	141.04 ^{abc}	166.47 ^{ab}
12	1.39	6.13 ^a	9.94 ^{ab}	16.50 ^{abcd}	27.00 ^{cdet}	38.63 ^{cdef}	67.45 ^{bcd}	104.84 ^{bc}	133.87 ^{bcde}	154.58 ^{bcd}
13	0.25	2.96 ^b	8.22 ^{abc}	18.56 ^{ab}	35.92 ^{ab}	47.14 ^{bc}	77.46 ^{ab}	114.44 ^{ab}	152.13 ^{ab}	172.38 ^{ab}
14	0.25	3.27 ^b	5.37 ^c	10.07 ^f	19.41 ^f	24.10 ^g	41.67 ^f	69.03 ^g	99.77 ^g	116.36 ^f
SEM	0.37	0.56	1.02	1.54	2.43	3.61	4.60	5.56	6.50	6.78
P-value	0.100	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

تیمار ۱ (جیره پایه شامل ۶۰:۴۰ کنسانتره و علوفه)، تیمار ۲ (جیره پایه + بنتونیت سدیم ۰/۵ درصد)، تیمار ۳ (جیره پایه + سدیم سسکوئی کربنات ۰/۵ درصد)، تیمار ۴ (جیره پایه + سدیم سسکوئی کربنات ۱ درصد)، تیمار ۵ (جیره پایه + سدیم سسکوئی کربنات ۱/۵ درصد)، تیمار ۶ (جیره پایه + سدیم سسکوئی کربنات ۲ درصد)، تیمار ۷ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۱ درصد)، تیمار ۸ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۱/۵ درصد)، تیمار ۹ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۲ درصد)، تیمار ۱۰ (جیره پایه + کربنات منیزیم ۲ درصد)، تیمار ۱۱ (جیره پایه + ۰/۷۵ درصد بی‌کربنات سدیم + ۰/۷۵ درصد سدیم سسکوئی کربنات)، تیمار ۱۲ (جیره پایه + زئولیت ۱/۵ درصد)، تیمار ۱۳ (جیره پایه + زئولیت ۲ درصد) و تیمار ۱۴ (جیره پایه + زئولیت ۲/۵ درصد).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ در هر ستون عدد دارای حرف‌های غیرهمسان از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

Treatment 1 (Basal diet, containing 60% concentrate and 40% forage), Treatment 2 (Basal diet + 0.5% sodium bentonite), Treatment 3 (Basal diet + 0.5% sodium sesquicarbonate), Treatment 4 (Basal diet + 1% sodium sesquicarbonate), Treatment 5 (Basal diet + 1.5% sodium sesquicarbonate), Treatment 6 (Basal diet + 2% sodium sesquicarbonate), Treatment 7 (Basal diet + 1% sodium bicarbonate), Treatment 8 (Basal diet + 1.5% sodium bicarbonate), Treatment 9 (Basal diet + 2% sodium bicarbonate), Treatment 10 (Basal diet + 2% magnesium carbonate), Treatment 11 (Basal diet + 0.75% sodium sesquicarbonate + 0.75% sodium bicarbonate), Treatment 12 (Basal diet + 1.5% Zeolite), Treatment 13 (Basal diet + 2% Zeolite), Treatment 14 (Basal diet + 2.5% Zeolite).

SEM: Standard error of means; within columns, means by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

جدول ۳. فراسنجه‌های تولید گاز جیره‌های آزمایشی حاوی انواع مختلف بافرها

Table 3. Gas production coefficient of experimental diets containing different types of buffers

Treatments	b (ml/200 mg DM)	c (ml/h)
1	183.10 ^{abcd}	0.015 ^{abcd}
2	205.75 ^{abc}	0.011 ^{cde}
3	161.01 ^d	0.019 ^a
4	195.14 ^{bc}	0.013 ^{bcde}
5	215.58 ^{ab}	0.019 ^a
6	232.97 ^a	0.012 ^{cde}
7	218.67 ^{ab}	0.094 ^e
8	207.28 ^{abc}	0.017 ^{ab}
9	202.11 ^{abc}	0.010 ^{de}
10	175.94 ^{cd}	0.017 ^{ab}
11	212.75 ^{ab}	0.016 ^{abc}
12	208.41 ^{abc}	0.014 ^{abcd}
13	218.64 ^{ab}	0.016 ^{abc}
14	208.02 ^{abc}	0.008 ^e
SEM	10.89	0.001

تیمار ۱ (جیره پایه شامل ۶۰:۴۰ کنسانتره و علوفه)، تیمار ۲ (جیره پایه + بنتونیت سدیم ۰/۵ درصد)، تیمار ۳ (جیره پایه + سدیم سسکویی کربنات ۰/۵ درصد)، تیمار ۴ (جیره پایه + سدیم سسکویی کربنات ۱ درصد)، تیمار ۵ (جیره پایه + سدیم سسکویی کربنات ۱/۵ درصد) تیمار ۶ (جیره پایه + سدیم سسکویی کربنات ۲ درصد)، تیمار ۷ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۱ درصد)، تیمار ۸ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۱/۵ درصد)، تیمار ۹ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۲ درصد)، تیمار ۱۰ (جیره پایه + کربنات منیزیم ۲ درصد)، تیمار ۱۱ (جیره پایه + بی‌کربنات سدیم ۰/۷۵ درصد + سدیم سسکویی کربنات ۰/۷۵ درصد)، تیمار ۱۲ (جیره پایه + زئولیت ۱/۵ درصد)، تیمار ۱۳ (جیره پایه + زئولیت ۲ درصد) و تیمار ۱۴ (جیره پایه + زئولیت ۲/۵ درصد)

b: تولید گاز از بخش قابل تخمیر، c: نرخ تولید گاز

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ در هر ستون عدد دارای حرف‌های غیرهمسان از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارند ($P < 0.05$).

Treatment 1 (Basal diet, containing 60% concentrate and 40% forage), Treatment 2 (Basal diet + 0.5% sodium bentonite), Treatment 3 (Basal diet + 0.5% sodium sesquicarbonate), Treatment 4 (Basal diet + 1% sodium sesquicarbonate), Treatment 5 (Basal diet + 1.5% sodium sesquicarbonate), Treatment 6 (Basal diet + 2% sodium sesquicarbonate), Treatment 7 (Basal diet + 1% sodium bicarbonate), Treatment 8 (Basal diet + 1.5% sodium bicarbonate), Treatment 9 (Basal diet + 2% sodium bicarbonate), Treatment 10 (Basal diet + 2% magnesium carbonate), Treatment 11 (Basal diet + 0.75% sodium sesquicarbonate + 0.75% sodium bicarbonate), Treatment 12 (Basal diet + 1.5% Zeolite), Treatment 13 (Basal diet + 2% Zeolite), Treatment 14 (Basal diet + 2.5% Zeolite).

b: Gas production from the fermentable fraction, c: Gas production rate (ml/h)

SEM: Standard error of means; within columns, means by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری کلی

بی‌کربنات سدیم، بی‌کربنات سدیم و زئولیت نیز بافرهای مناسبی برای استفاده در جیره‌های حاوی مواد متراکم بالا در تغذیه نشخوارکنندگان ارزیابی شدند. با توجه به قیمت بسیار پایین‌تر و فراوانی بافرهایی مانند زئولیت در مقایسه با بافرهای رایجی مانند بی‌کربنات سدیم، می‌توان آن را برای استفاده در تغذیه دام نشخوارکننده توصیه کرد. البته پیش از آن برای اطمینان بیشتر، انجام تحقیقات برای مقایسه تأثیر آن‌ها در دام نیز ضرورت دارد.

بنابر نتایج این آزمایش‌ها، استفاده از سدیم سسکویی کربنات، سبب افزایش ظرفیت بافری و بهبود تخمیر شکمبه‌ای می‌شود. به طوری که افزودن آن به جیره غذایی دام‌های تغذیه‌شده با مواد متراکم بالا می‌تواند به‌عنوان یک راهکار تغذیه‌ای در جلوگیری از کاهش pH شکمبه مؤثر باشد. از نظر ظرفیت بافری و حجم گاز تولیدشده، سدیم سسکویی کربنات بهترین جایگاه و پس‌از آن بافر ترکیبی (سدیم سسکویی کربنات +

REFERENCES

1. Aguerre, M. J., Wattiaux, M. A., Powell, J. M., Broderick, G. A. & Arndt, C. (2011). Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *Journal of Dairy Science*, 94, 3081-3093.
2. Arambel, M. J., Wiedmeier, R. D., Clark, D. H., Lamb, R. C., Boman, R. L. & Walters, J. L. (1988). Effect of sodium bicarbonate and magnesium oxide in an alfalfa-based total mixed ration fed to early lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 71(1), 159-163.
3. Askar, A. R., Guada, J. A., Gonzalez, J. M., de Vega, A. & Castrillo, C. (2011). Effects of sodium bicarbonate on diet selection and rumen digestion by growing lambs individually fed whole barley grain and a protein supplement at their choice. *Animal feed science and technology*, 164 (1), 45-52
4. Bargo, F. L., Kolver, E & Delahoy, J. (2003). Invited review: production and digestion of supplemented dairy cows on pasture. *Journal of Dairy Science*, 86 (1), 1-42.

5. Beauchemin, K. A. & Yang, W. Z. (2005). Effects of physically effective fiber on intake, chewing activity, and ruminal acidosis for dairy cows fed diets based on corn silage. *Journal of Dairy Science*, 88(6), 2117-2129.
6. Bonsembiante, M., Chiericato, G. M. & Gallo, L. (1992). *Sodium bicarbonate in diets based on silage for bovine meat production*. Informatore Agrario (Italy).
7. Campbell, M. K. & Farrell, S. O. (2006). *Biochemistry* (International Student Edition), 5th Ed. Thompson Brooks/Cole, Belmont, CA, USA.
8. Enemark, J. M. D. (2009). The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Veterinary Journal*, 176, 32-43
9. Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. *Journal of Dairy Science*, 71,3246-3266
10. García-González R, López, S., Fernández, M. & González, J.S. (2006). Effects of the addition of some medicinal plants on methane production in a rumen simulating fermenter (RUSITEC). *International Congress Series*.1293, 172-175
11. Herod, E. L., Bechtle, R. M., Bartley, E. E. & Dayton, 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.
12. Horan, B., Faverdin, P., Delaby, L., Rath, M. & Dillon, P. (2006). The effect of strain of Holstein-Friesian dairy cow and pasture-based system on grass intake and milk production. *Journal of Animal Science*, 82 (04), 435-444
13. Hoor, A. & Danesh Mesgaran, M. (2013). *Determination of the capacity and index of buffering value of some chemical compounds and its effect on the acidity of diets containing different amounts of grass, hay in vitro*. Master's thesis. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (in Farsi)
14. Hutjens, M. F. 1998. *Strategic use of feed additives in dairy cattle nutrition*. University of Illinois, Illini DairyNet Papers.from,<http://livestocktrail.illinois.edu/dairynet/paperdisplay.cfm?contentid=156>
15. Jafarpour Boroujeni, M. J., Danesh Mesgaran, M., Vakili, A. R. & 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. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(4), 769-775
16. Jafarpour Boroujeni, M., Vakili, A., Danesh Mesgaran, M. & Naserian, A. A. (2015). The effect of buffering capacity of mixed inorganic compounds on rumen acidogenic value diets with different forage to concentrate ratio *in vitro*, Congress of Research new in Animal Sciences 6-7 June., Birjand University, Iran, pp. 640-643. (in Farsi)
17. Jones, M. L., Clark, J. D. & Michael, N. A. (2016). Effects of supplementing lactating dairy cow ration with sodium sesquicarbonate on reticulorumen pH, rumination, and dry matter. *Journal of Animal Science*, 94, 359.
18. Kaplan, O., Deniz, S., Karsli, M. A., Nursoy, H. & Avci, M. (2010). Effects of sodium bicarbonate, magnesium oxide and dried sugar beet pulp in diets of dairy cows on milk yield, milk composition and rumen fluid and some blood parameters. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(11), 1570-1574.
19. Karimizandi, M. & Kafilzadeh, F. (2010). *Effect of different sources of zeolites on microbial protein synthesis, protozoa population, kinetic of fermentation and pH different carbohydrate and protein source on in vitro method*. Faculty of Agriculture Department of Animal Science, Razi University. Master's Thesis. Iran. Abstract. (in Farsi)
20. Kianoosh, Sh. (2012). *Bentonite The clay of 1000 uses*. p170. (in Farsi)
21. Khalifeh, M. J., Mohammadabadi, T., Chaji, M. Salari, S & Khalil, M. (2012). The effect of different levels of sodium bentonite on *in vitro* fermentation and digestibility of soybean meal. In: Proceedings of the 15th AAAP Animal Science Congress, 26-30 November hammasat University, Rangsit Campus, Thailand, pp. 3133-3135.
22. Kohn, R. A., Dunlap, T. F. (1998). Calculation of the buffering capacity of bicarbonate in the rumen and *in vitro*. *Journal of Animal Science*, 76, 1702-1709.
23. Krajcarski-Hunt, H., Plaizier, J. C., Walton, J. P., Spratt, R. McBride, B. W. (2002). Short communication: Effect of subacute ruminal acidosis on *in situ* fiber digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 570-573.
24. Le Ruyet, P. & Tucker, W. B. (1992). Ruminal buffers: Temporal effects on buffering capacity and pH of ruminal fluid from cows fed a high concentrate diet. *Journal of Dairy Science*, 75, 1069-1077.
25. Li, S., Danscher, A. M. & Plaizier, J. C. (2013). Subacute ruminal acidosis (SARA) in dairy cattle: new developments in diagnostic aspects and feeding management. *Canadian Journal of Animal Science*, 94 (1), 353-364.

26. Marden, J. P., Julien, C., Monteils, V., Auclair, E., Moncoulon, R. & Bayourthe, C. (2008). How does live yeast differ from sodium bicarbonate to stabilize ruminal pH in high-yielding dairy cows? *Journal of Dairy Science*, 91, 3528-3535.
27. Menke, K. H. & Steingass, 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.
28. Ørskov, E. R. & McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92(02), 499-503.
29. Patra, A. K. & Yu, Z. T. (2013). Effects of gas composition in headspace and bicarbonate concentrations in media on gas and methane production, degradability, and rumen fermentation using *in vitro* gas production techniques. *Journal of Dairy Science*, 96, 4592-4600
30. Plaizier, J. C., Krause, D. O., Gozho, G. N. & McBride, B. W. (2008). Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences. *Veterinary Journal*, 176, 21-31
31. Qiao, J., Tan, Y. Z. L., Guan, L. L., Tang, S. X., Zhou, C. S., Han, X. F., Wang, M., Kang, J. H. & He, Z. X. 2015. Effects of hydrogen in headspace and bicarbonate in media on rumen fermentation, methane production and methanogenic population using *in vitro* gas production techniques. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 28-19
32. Santra, A., Chaturvedi, O. H., Tripathi, M. K., Kumar, R. & 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.
33. Schaefer, D. M., Wheeler, L. J., Noller, C. H., Keyser, R. B. & White, J. L. (1982). Neutralization of acid in the rumen by magnesium oxide and magnesium carbonate. *Journal of Dairy Science*, 65, 732
34. Thomas, E. E. & Hall, M. W. (1984). Effect of sodium bicarbonate and tetra sodium pyrophosphate upon utilization of concentrate-and-roughage-based cattle diets: cattle studies. *Journal of Animal Science*, 59, 1309-1319
35. Tucker, W. B., Hogue, J. F., Aslam, M., Lema, M., Martin, M., Owens, F. N., Shin, I. S., Le Ruyet, P. & 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, 811.