

ترجمه تخصصی فارسی مقاله پژوهشی

بررسی اثر pH پایین شکمبه بر غلظت سرمی مواد معدنی پرمقدار، عناصر کممقدار و ویتامین‌ها و وضعیت اکسیداتیو گاوهای شیری

Original title: Investigation of Effects of Low Ruminant pH Values on Serum Concentrations of Macrominerals, Trace Elements, and Vitamins and Oxidative Status of Dairy Cows

نویسندگان: Panagiotis D. Katsoulos, Bengü Bilgiç, Duygu Tarhan, Fatma Ateş, Suat Ekin, Süleyman Kozat, Banu Dokuzeylül, Mehmet Erman Or, Emmanouil Kalaitzakis, Nikolaos Panousis و Georgios E. Valergakis

مشخصات انتشار: مجله *Ruminants*، سال ۲۰۲۵، جلد ۵، مقاله ۳۵؛ DOI: 10.3390/ruminants5030035. مقاله اصلی با مجوز دسترسی آزاد CC BY 4.0 منتشر شده است.

یادداشت مترجم: ترجمه بر اساس PDF اصلی مقاله انجام شده و اصطلاحات تخصصی علوم دامی، تغذیه نشخوارکنندگان و دامپزشکی در آن رعایت شده‌اند. شماره ارجاع‌های درون‌متنی، واحدها و مقادیر عددی حفظ شده‌اند. فهرست منابع در پایان به زبان اصلی باقی می‌ماند تا مشخصات کتاب‌شناختی دچار خطا نشود.

خلاصه ساده مقاله

این پژوهش بررسی کرد که pH پایین شکمبه چه ارتباطی با غلظت **خونی** مواد معدنی پرمقدار، عناصر کممقدار، ویتامین‌ها و وضعیت اکسیداتیو گاوهای شیری در اوایل شیردهی دارد. از ۵۳ رأس گاو هلشتاین در روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ شیردهی نمونه خون و مایع شکمبه گرفته شد. نتایج نشان داد pH پایین بر بیشتر مواد معدنی، ویتامین‌ها و شاخص‌های استرس اکسیداتیو اثر معنی‌داری نداشت؛ با این حال، غلظت مس، آهن و کبالت خون در گاوهای دارای pH پایین، به‌ویژه در روز ۱۵۰ شیردهی، بیشتر بود.

چکیده

به‌دلیل **نظام تغذیه‌ای** متکی بر جیره‌های پرکنسانتره در اوایل شیردهی، pH شکمبه گاوهای شیری از الگوی تغییرات شبانه‌روزی پیروی می‌کند و ممکن است در بخش قابل‌توجهی از روز، پایین‌تر از سطح بحرانی ۵٫۵ باقی بماند. هدف مطالعه، ارزیابی اثر pH پایین شکمبه بر غلظت **خونی** برخی مواد معدنی پرمقدار، عناصر کممقدار، ویتامین‌های محلول در چربی و وضعیت اکسیداتیو گاوهای شیری طی نیمه نخست شیردهی بود. در این پژوهش از ۵۳ رأس گاو هلشتاین شیرده که به‌صورت تصادفی انتخاب شده بودند استفاده شد. در روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ شیردهی از تمام گاوها نمونه خون و مایع شکمبه جمع‌آوری شد. نمونه خون از طریق خون‌گیری از ورید دُمی و مایع شکمبه با روش رومنوسنتز به‌دست

آمد و pH بلافاصله پس از نمونه‌گیری اندازه‌گیری شد. بر اساس آستانه ۵/۵، نمونه‌ها در دو گروه pH طبیعی (بیشتر از ۵/۵) و pH پایین (برابر یا کمتر از ۵/۵) قرار گرفتند.

غلظت سرمی کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، پتاسیم (K)، کروم (Cr)، منگنز (Mn)، روی (Zn)، سelenیم (Se) و ویتامین‌های A، D3، E و K، چه از نظر روزهای شیردهی و چه از نظر اثر متقابل روز شیردهی و وضعیت pH، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>0.05$). غلظت پلاسمایی مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و گلووتاتیون احیاشده (GSH) نیز همین الگو را داشت. غلظت مس در گاوهای دارای pH پایین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<0.05$) و غلظت آهن نیز گرایش به افزایش داشت ($p=0.052$). در روز ۱۵۰ شیردهی، غلظت مس، آهن و کبالت در گاوهای دارای pH پایین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای pH طبیعی بود ($p<0.05$). بنابراین، pH پایین شکمبه با تغییر معنی‌دار غلظت سرمی مس، آهن و کبالت همراه بود، اما اثر معنی‌داری بر وضعیت اکسیداتیو دام یا غلظت سرمی عناصر پرمقدار و ویتامین‌های محلول در چربی بررسی شده نداشت.

کلیدواژه‌ها: عناصر کم‌مقدار؛ عناصر پرمقدار؛ ویتامین‌های سرم؛ استرس اکسیداتیو؛ pH مایع شکمبه؛ گاو شیری.

۱. مقدمه

شکمبه نقشی محوری در هضم و متابولیسم مواد مغذی نشخوارکنندگان دارد و محل اصلی تخمیر میکروبی و جذب مواد مغذی است [۱]. یکی از عوامل مهم مؤثر بر عملکرد شکمبه، pH است؛ زیرا مستقیماً بر پویایی جمعیت میکروبی، الگوهای تخمیر و فراهمی زیستی مواد مغذی ضروری اثر می‌گذارد [۲]. در شرایط فیزیولوژیک، pH شکمبه به‌طور دقیق تنظیم می‌شود؛ با این حال، تغییرات جیره، به‌ویژه افزودن خوراکی‌های پرکنسانتره، می‌تواند نوسان‌هایی ایجاد کند که گاوهای شیری را مستعد اسیدوز تحت‌حاد یا حاد شکمبه می‌سازد. این تغییرات نه‌تنها کارایی خوراک و تولید شیر را مختل می‌کنند، بلکه ممکن است پیامدهای سیستمیک فراتر از دستگاه گوارش نیز داشته باشند [۳].

کاهش pH شکمبه بر ترکیب جمعیت باکتریایی، الگوهای تخمیر و غلظت اسیدهای چرب شکمبه اثر می‌گذارد [۴]. این تغییرات ممکن است فراهمی زیستی مواد مغذی مانند مواد معدنی پرمقدار، ویتامین‌های محلول در چربی و عناصر کم‌مقدار را تغییر داده و در ادامه بر غلظت سرمی آن‌ها اثر بگذارد [۵، ۶]. شواهدی نیز وجود دارد که pH پایین شکمبه با افزایش گونه‌های فعال اکسیژن، پاسخ التهابی و استرس اکسیداتیو ایجاد می‌کند [۷، ۸]. این وضعیت ممکن است نیاز به مواد مغذی دخیل در فرایندهای آنتی‌اکسیدانی، از جمله ویتامین E، سلنیوم، روی، منگنز و مس را افزایش دهد [۹].

پژوهش‌های پیشین عمدتاً بر اثر pH شکمبه بر فرآورده‌های نهایی تخمیر و عملکرد دام متمرکز بوده‌اند و مطالعات کمتری پیامدهای آن را بر شاخص‌های بیوشیمیایی سیستمیک بررسی کرده‌اند. عناصر کم‌مقدار در خون‌سازی، متابولیسم اکسیداتیو و انرژی، تنظیم ایمنی و پاسخ التهابی نقش دارند [۲۰]. سلنیوم و روی اجزای سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی و ایمنی‌اند [۱۴، ۲۱] و روی می‌تواند تولید شیر را افزایش دهد [۲۲]. کبالت برای حفظ میکروبیوتای شکمبه‌ای تولیدکننده کو‌بالامین و متابولیسم شکمبه ضروری است [۲۳]. از آنجاکه سلنیوم، مس و روی در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلووتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مشارکت دارند، تغییر متابولیسم آن‌ها در شرایط pH پایین ممکن است دفاع اکسیداتیو را مختل کند [۲۴].

ویتامین‌ها در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، رشد، تولید شیر، باروری و ایمنی نقش دارند [۲۵]. ویتامین A در مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و دفاع بافت‌های اپی‌تلیالی مؤثر است [۲۶] و مکمل‌سازی آن می‌تواند تولید شیر و عملکرد ایمنی را بهبود دهد [۲۷]. ویتامین D در تحریک ایمنی ذاتی و حفظ هم‌ایستایی کلسیم و فسفر نقش دارد [۲۸]. ویتامین E عملکرد ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها را تقویت می‌کند، شمار سلول‌های سوماتیک شیر را کاهش می‌دهد و سلامت پستان را بهبود می‌بخشد [۲۹، ۳۰]. ویتامین K افزون بر نقش در انعقاد خون، ممکن است بر شیردهی، تخمیر شکمبه و میکروبیوم روده نیز اثر بگذارد [۳۱، ۳۲]. بر این اساس، پژوهشگران فرض کردند که pH پایین شکمبه غلظت سرمی مواد معدنی و ویتامین‌های محلول در چربی را تغییر داده و استرس اکسیداتیو را افزایش می‌دهد.

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. دام‌ها و طرح مطالعه

مطالعه در یک گاوداری تجاری یونان انجام شد که شیوع اسیدوز تحت‌حاد شکمبه (SARA) در آن بالا بود (۵۰ درصد؛ گاوداری شماره ۱۱ [۳۳]) و بخشی از پژوهشی پیشین محسوب می‌شد [۲]. گاوها در جایگاه فری‌استال دو ردیفه و به صورت گروهی نگهداری می‌شدند. جیره کاملاً مخلوط‌شده (TMR) به صورت آزاد در اختیار دام‌ها بود و ترکیب آن با توجه به سطح تولید شیر گله تنظیم می‌شد.

اجزای TMR عبارت بودند از: سیلاژ ذرت (۴۵ درصد ماده خشک)، یونجه خشک (۱۱ درصد)، کاه گندم (۴ تا ۹ درصد)، دانه ذرت (۱۲ تا ۱۵ درصد)، سبوس گندم (۶ درصد)، کنجاله سویا (۱۲ تا ۱۴ درصد)، مکمل چربی از نوع صابون کلسیمی اسیدهای چرب (۱/۵ درصد) و پیش‌مخلوط ویتامینی - معدنی (۳/۵ درصد ماده خشک). پیش‌مخلوط حاوی ۲۰/۷۹٪ کلسیم، ۳/۳۷٪ فسفر، ۴/۵۰٪ منیزیم، ۶٪ سدیم، ۶۰۰'۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A در هر کیلوگرم، ۱۲۰'۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D3 در هر کیلوگرم، ۳ گرم ویتامین E در هر کیلوگرم، ۱/۴۴ گرم اکسید روی، ۲/۸۵ گرم کلات روی، ۱/۸۶ گرم اکسید منگنز، ۱/۹۸ گرم کلات منگنز، ۰/۶۷۵ گرم کلات مس، ۰/۱۸ گرم ید، ۰/۰۴ گرم کبالت و ۰/۰۲ گرم سلیوم در هر کیلوگرم بود. جیره مطابق توصیه‌های انرژی خالص و پروتئین قابل‌متابولیسم شورای ملی پژوهش (NRC) تنظیم شده بود [۳۴]. بی‌کربنات سدیم به میزان ۰/۷۵ درصد ماده خشک افزوده می‌شد و بافر دیگری استفاده نمی‌شد. فضای آخور برای هر گاو ۶۰ سانتی‌متر و تراکم نگهداری در گروه شیرده ۹۰ تا ۱۲۵ درصد بود.

۵۳ رأس گاو هلشتاین شیرده از نظر بالینی سالم، به صورت تصادفی انتخاب شدند. میانگین تعداد زایش ۱/۴۹ (انحراف معیار ۰/۶۹) بود؛ ۱۹ رأس چندزا و ۳۴ رأس نخست‌زا بودند. مطالعه از روز ۳۰ تا روز ۱۵۰ شیردهی ادامه داشت. در روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ پس از معاینه بالینی، نمونه خون و مایع شکمبه جمع‌آوری شد. هرگاه دامدار نشانه‌ای از بیماری بالینی یا کاهش تولید شیر مشاهده می‌کرد، معاینه بالینی انجام می‌شد.

مایع شکمبه با روش رومنوسنتز جمع‌آوری و pH آن بلافاصله اندازه‌گیری شد [۲]. نمونه‌گیری بین ساعت ۱۲ تا ۱۴ انجام می‌شد تا در بازه پیشنهادی ۵ تا ۸ ساعت پس از خوراک‌دهی صبح قرار گیرد [۳۵]. در هر نوبت، pH برابر یا کمتر از ۵/۵ «پایین» و pH بیشتر از ۵/۵ «طبیعی» در نظر گرفته شد [۳۶].

۲.۲. خون‌گیری و آنالیز آزمایشگاهی

پس از شیردوشی صبح و پیش از خوراک‌دهی، خون از ورید دُمی گرفته شد. نمونه‌ها در لوله‌های خلاء پلی‌اتیلنی ۱۰ میلی‌لیتری حاوی K3EDTA و نیز لوله‌های فاقد ضدانعقاد جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها روی یخ به آزمایشگاه انتقال یافتند و حدود دو تا سه ساعت پس از نمونه‌گیری، سرم و پلاسما با سانتریفیوژ ۱۶۰۰ برابر g به مدت ۲۰ دقیقه جدا شدند. نمونه‌ها در لوله‌های اپندورف و دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از سرم برای اندازه‌گیری Ca, P, Mg, K, Zn, Cu, Fe, Mn, Co, Se, Cr و ویتامین‌های A, D3, E و K استفاده شد. MDA و GSH در پلاسما تعیین شدند.

۲.۳. اندازه‌گیری عناصر پرمقدار و کم‌مقدار

آنالیز عناصر با دستگاه طیف‌سنج نشر نوری پلاسمای جفت‌شده القایی (ICP-OES؛ Thermo iCAP 6000) انجام شد. برای آنالیز عناصر کم‌مقدار، سرم با آب مقطر به نسبت ۱:۱۰ رقیق شد. برای کنترل کیفیت از محلول‌های آزمون ۲۰۰۰ ppm و محلول‌های استاندارد ۱۰۰۰ ppm استفاده شد. کالیبراسیون سه نقطه‌ای با محلول‌های استاندارد و بلانک انجام شد و برای هر عنصر منحنی خطی و تکرارپذیر به دست آمد. طول موج‌های مورد استفاده عبارت بودند از: Cr، ۲۶۷٫۸۱۶؛ Cu، ۳۲۴٫۷۵۴؛ Fe، ۲۵۹٫۹۴۰؛ Mg، ۲۸۵٫۲۱۳؛ Mn، ۲۵۷٫۶۱۰؛ Se، ۱۹۶٫۰۹۰؛ Zn، ۲۰۶٫۲۰۰؛ Co، ۲۲۸٫۷۱۶؛ Ca، ۳۱۷٫۹۳۳؛ P، ۲۱۳٫۶۱۸ و K، ۷۶۶٫۴۹۰ نانومتر. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد و میانگین به کار رفت.

پارامتر دستگاه ICP-OES	مقدار تنظیم‌شده
دبی گاز پلاسما	۱۵ لیتر در دقیقه
دبی آرگون حامل	۰٫۵ لیتر در دقیقه
دبی نمونه	۱٫۵۱ لیتر در دقیقه
سرعت پمپ پریستالتیک	۱۰۰ دور در دقیقه
توان RF	۱۱۵۰ وات

۲.۴. اندازه‌گیری ویتامین‌های A, D, E و K

محلول‌های ذخیره آلفا-توکوفرول، رتینول، فیلوکینون و کوله‌کلسیفرول با غلظت ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شدند و برای آماده‌سازی استانداردها با متانول رقیق شدند. غلظت محلول‌ها با رگرسیون خطی سطح زیر قله کروماتوگرافی استاندارد شد. برای کاهش تخریب ناشی از نور فرابنفش، نمونه‌های پوشیده‌شده با روکش پلاستیکی در دمای محیط و زیر نور فلورسنت ذوب شدند. برای استخراج ویتامین‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر سرم با ۱۰۰ میکرولیتر اتانول و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند BHT با غلظت ۰٫۲۵٪ پروتئین‌زدایی شد. پس از ورتکس یک دقیقه‌ای، نمونه‌ها دو بار با ۶۰۰ میکرولیتر n-هگزان استخراج شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. ۵۰۰ میکرولیتر از لایه هگزان در جریان نیتروژن و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. باقیمانده در ۵۰ میکرولیتر تتراهیدروفوران حل و ۱۵۰ میکرولیتر متانول افزوده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر نمونه به ویال شیشه‌ای تیره منتقل شد.

سامانه کروماتوگرافی شامل HP Agilent 1100 با آشکارساز آرایه دیودی و نمونه‌بردار خودکار بود. جداسازی با ستون فاز معکوس C18 به ابعاد ۲۵۰ در ۴٫۶ میلی‌متر و اندازه ذره ۵ میکرومتر انجام شد. فاز متحرک مخلوط متانول و

تتراهیدروفوران با نسبت ۸۰:۲۰ بود [۳۸]؛ دبی ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای ستون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و شویش ایزوکراتیک بود. آشکارسازی در طول موج‌های ۲۹۰، ۳۲۵، ۲۶۵ و ۲۴۸ نانومتر به‌ترتیب برای آلفا-توکوفرول، رتینول، کوله‌کلسیفرول و فیلوکینون انجام شد.

۲.۵. تعیین مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

برای ارزیابی استرس اکسیداتیو، MDA حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی که با اسید تیوباربیتوریک (TBA) واکنش می‌دهد، مطابق روش Draper و Hadley اندازه‌گیری شد [۳۹]. مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر پلاسما با ۱ میلی‌لیتر TCA با غلظت ۱۵٪، ۱/۵ میلی‌لیتر TBA با غلظت ۳۰٪ و ۰/۲ میلی‌لیتر HCl پنج مولار مخلوط و ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از سرد شدن، نمونه‌ها ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. جذب مایع رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفتومتر Shimadzu UV-1800 اندازه‌گیری شد. نتایج بر حسب میکرومول در لیتر گزارش شدند.

۲.۶. تعیین گلوتاتیون (GSH)

غلظت GSH با روش [۳۱] Beutler و معرف Ellman یا DTNB اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۳ میلی‌لیتر محلول رسوب‌دهنده به ۰/۲ میلی‌لیتر نمونه افزوده و مخلوط پنج دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس به ۰/۲ میلی‌لیتر مایع رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول فسفات ثانویه و ۰/۱ میلی‌لیتر معرف ال‌من افزوده شد و مخلوط پنج دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. جذب نوری در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج بر حسب میکرومول در لیتر بیان شدند.

۲.۷. تحلیل آماری

برای تحلیل داده‌ها از JASP نسخه ۰/۱۸/۳ استفاده شد. اثر وضعیت pH، روزهای شیردهی (DIM) و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های بیوشیمیایی با تحلیل واریانس دوطرفه ارزیابی شد. همگنی واریانس‌ها با آزمون لوین و نرمال بودن داده‌ها با نمودارهای Q-Q باقیمانده‌ها بررسی شد. آزمون توکی برای مقایسه‌های پس‌آزمون به کار رفت و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ یا کمتر در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

فراوانی گاوهای دارای pH پایین در روز ۳۰ شیردهی ۴۵/۳٪ (۲۴ از ۵۳)، در روز ۹۰ برابر ۵۴/۱٪ (۲۹ از ۵۳) و در روز ۱۵۰ برابر ۶۶٪ (۳۵ از ۵۳) بود. میانگین غلظت کلسیم تحت تأثیر وضعیت pH یا روز شیردهی قرار نگرفت ($p>0.05$)؛ جدول ۲). با این حال، در روز ۳۰ میانگین کلسیم در گاوهای دارای pH پایین گرایش به افزایش داشت ($p=0.058$). میانگین فسفر فقط تحت تأثیر روز شیردهی قرار گرفت ($p<0.05$) و از روز ۳۰ تا روز ۹۰ افزایش معنی‌داری داشت. وضعیت pH بر فسفر اثر معنی‌داری نداشت. میانگین منیزیم و پتاسیم نیز نه تحت تأثیر وضعیت pH و نه روز شیردهی قرار

گرفت ($p>0.05$). هرچند در روز ۱۵۰ میانگین منیزیم در گاوهای دارای pH پایین بیشتر از گروه pH طبیعی بود ($p<0.05$).

جدول ۲. میانگین $\pm$ خطای استاندارد غلظت سرمی کلسیم، فسفر غیرآلی، منیزیم و پتاسیم

شاخص	گروه	روز ۳۰	روز ۹۰	روز ۱۵۰	میانگین گروه pH
Ca ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	2.54 ± 90.03	2.45 ± 85.77	2.45 ± 90.41	1.44 ± 88.73
	pH طبیعی	2.45 ± 83.27	2.59 ± 88.27	2.90 ± 89.67	1.53 ± 87.07
	میانگین روز	1.77 ± 86.65	1.80 ± 87.02	1.90 ± 90.04	—
P ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	7.34 ± 117.47	7.20 ± 144.51	7.07 ± 162.56	4.16 ± 141.51
	pH طبیعی	7.07 ± 115.83	7.48 ± 145.14	8.37 ± 152.06	4.42 ± 137.68
	میانگین روز	5.10 ± 116.65	5.19 ± 144.82	5.48 ± 157.31	—
Mg ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.67 ± 20.78	0.66 ± 20.70	0.65 ± 21.35	0.38 ± 20.95
	pH طبیعی	0.65 ± 20.72	0.68 ± 21.34	0.77 ± 19.23	0.40 ± 20.43
	میانگین روز	0.47 ± 20.75	0.48 ± 21.02	0.502 ± 20.29	—
K ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	6.69 ± 108.04	6.69 ± 120.07	6.43 ± 103.85	3.81 ± 110.65
	pH طبیعی	6.55 ± 94.58	6.55 ± 111.90	7.52 ± 102.25	4.00 ± 102.91
	میانگین روز	4.68 ± 101.31	4.68 ± 115.98	4.94 ± 103.05	—

DIM: روزهای شیردهی. حروف بزرگ متفاوت در یک ردیف از جدول اصلی نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین زمان‌های شیردهی است ($p<0.05$).

میانگین غلظت مس در گاوهای دارای pH پایین به‌طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای دارای pH طبیعی بود؛ به‌ترتیب 1.05 ± 0.32 و 0.45 ± 0.32 میکرومول در لیتر ($p<0.05$). بین روزهای نمونه‌گیری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ میانگین روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ به‌ترتیب 0.32 ± 0.32 ، 0.32 ± 0.08 و 0.22 ± 0.32 میکرومول در لیتر بود ($p>0.05$). در روزهای ۳۰ و ۹۰، اختلاف مس سرم بین دو گروه معنی‌دار نبود، اما در روز ۱۵۰، غلظت مس در گروه pH پایین بیشتر بود ($p<0.05$; شکل ۱).

میانگین غلظت آهن تحت تأثیر معنی‌دار وضعیت pH یا روز شیردهی قرار نگرفت؛ میانگین روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ به‌ترتیب 23.63 ± 1.61 ، 24.52 ± 1.61 و 24.40 ± 1.61 میکرومول در لیتر بود ($p>0.05$). با این حال، آهن در گروه pH پایین گرایش به افزایش داشت؛ میانگین آن در گروه‌های pH پایین و طبیعی به‌ترتیب 24.03 ± 1.25 و 23.45 ± 1.25 میکرومول در لیتر بود ($p=0.052$). در روز ۱۵۰، غلظت آهن در گاوهای دارای pH پایین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($p<0.05$)، اما در روزهای دیگر اختلافی مشاهده نشد.

غلظت کبالت در روزهای شیردهی تغییر معنی‌داری نداشت؛ میانگین روزهای ۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ به‌ترتیب 8.05 ± 14.02 ، 56.29 ± 12.15 و 45.31 ± 14.49 نانومول در لیتر بود ($p>0.05$). اثر کلی وضعیت pH بر کبالت نیز در گزارش مقاله معنی‌دار نبود؛ میانگین گروه‌های pH پایین و طبیعی به‌ترتیب 83.13 ± 11.38 و 54.92 ± 12.01 نانومول در لیتر گزارش شد.

بالین حال، در روز ۱۵۰، کبالت در گروه pH پایین به طور معنی داری بیشتر بود ($p < 0.05$). میانگین غلظت کروم، سلیوم، منگنز و روی تحت تأثیر وضعیت pH یا روز شیردهی قرار نگرفت و در هیچ روزی تفاوت معنی داری بین گروه‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$; جدول ۳).

جدول ۳. میانگین $\pm$ خطای استاندارد غلظت سرمی کروم، منگنز، سلیوم و روی

عنصر	گروه	روز ۳۰	روز ۹۰	روز ۱۵۰	میانگین گروه pH
Cr ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.010 ± 0.032	0.010 ± 0.032	0.009 ± 0.039	0.006 ± 0.034
	pH طبیعی	0.009 ± 0.036	0.010 ± 0.027	0.011 ± 0.020	0.006 ± 0.028
	میانگین روز	0.007 ± 0.034	0.007 ± 0.029	0.007 ± 0.029	—
Mn ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.0006 ± 0.004	0.0006 ± 0.003	0.0006 ± 0.005	0.0004 ± 0.004
	pH طبیعی	0.0006 ± 0.003	0.0006 ± 0.004	0.0007 ± 0.004	0.0004 ± 0.004
	میانگین روز	0.0004 ± 0.004	0.0004 ± 0.004	0.0005 ± 0.004	—
Se ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.030 ± 0.457	0.029 ± 0.469	0.029 ± 0.483	0.017 ± 0.470
	pH طبیعی	0.029 ± 0.399	0.030 ± 0.496	0.034 ± 0.459	0.018 ± 0.451
	میانگین روز	0.021 ± 0.428	0.021 ± 0.483	0.022 ± 0.471	—
Zn ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.027 ± 0.507	0.026 ± 0.500	0.026 ± 0.572	0.015 ± 0.526
	pH طبیعی	0.026 ± 0.464	0.027 ± 0.519	0.030 ± 0.500	0.016 ± 0.494
	میانگین روز	0.019 ± 0.485	0.019 ± 0.510	0.020 ± 0.536	—

میانگین غلظت ویتامین‌های محلول در چربی و شاخص‌های MDA و GSH در طول دوره مطالعه تقریباً ثابت بود و تحت تأثیر معنی دار وضعیت pH شکمبه قرار نگرفت ($p > 0.05$; جدول ۴). در هیچ یک از روزهای نمونه‌گیری نیز اختلاف معنی داری بین گروه‌های pH مشاهده نشد.

جدول ۴. میانگین $\pm$ خطای استاندارد غلظت سرمی/پلاسمایی ویتامین‌ها و شاخص‌های اکسیداتیو

شاخص	گروه	روز ۳۰	روز ۹۰	روز ۱۵۰	میانگین گروه pH
ویتامین A ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.141 ± 1.109	0.164 ± 1.042	0.128 ± 1.126	0.084 ± 1.092
	pH طبیعی	0.148 ± 1.208	0.141 ± 1.318	0.164 ± 1.092	0.082 ± 1.206
	میانگین روز	0.102 ± 1.158	0.108 ± 1.180	0.104 ± 1.109	—
ویتامین D ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.025 ± 0.183	0.028 ± 0.178	0.022 ± 0.169	0.014 ± 0.177
	pH طبیعی	0.025 ± 0.160	0.024 ± 0.209	0.028 ± 0.165	0.015 ± 0.178
	میانگین روز	0.018 ± 0.171	0.018 ± 0.193	0.018 ± 0.167	—
ویتامین E ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.121 ± 1.020	0.140 ± 1.195	0.114 ± 1.290	0.072 ± 1.168

شاخص	گروه	روز ۳۰	روز ۹۰	روز ۱۵۰	میانگین گروه pH
	pH طبیعی	0.129 ± 0.943	0.124 ± 0.900	0.140 ± 1.096	0.076 ± 0.980
	میانگین روز	0.089 ± 0.982	0.093 ± 1.048	0.090 ± 1.193	—
ویتامین K ($\mu\text{g/mL}$)	pH پایین	0.110 ± 0.797	0.124 ± 0.715	0.099 ± 0.731	0.064 ± 0.748
	pH طبیعی	0.112 ± 0.752	0.107 ± 0.856	0.124 ± 0.699	0.066 ± 0.769
	میانگین روز	0.078 ± 0.774	0.082 ± 0.785	0.079 ± 0.715	—
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	pH پایین	1.155 ± 17.485	1.138 ± 15.526	1.155 ± 16.657	0.664 ± 16.556
	pH طبیعی	1.414 ± 16.022	1.106 ± 14.500	1.254 ± 16.868	0.730 ± 15.797
	میانگین روز	0.913 ± 16.753	0.793 ± 15.013	0.852 ± 16.763	—
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	pH پایین	2.962 ± 23.691	2.918 ± 23.018	2.962 ± 27.367	1.702 ± 24.692
	pH طبیعی	3.628 ± 26.880	2.836 ± 21.562	3.216 ± 26.474	1.872 ± 24.972
	میانگین روز	2.342 ± 25.285	2.035 ± 22.290	2.186 ± 26.921	—

در جدول اصلی برای ویتامین‌ها، MDA و GSH اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های pH یا روزهای شیردهی گزارش نشده است ($p > 0.05$).