

ORIGINAL

Determination of effects of some pelleted straws on rumen pH and temperatures with wireless rumen sensors

Determinación de los efectos de algunas pastillas peletizadas en el rumen pH y temperaturas con sensores de rumen inalámbricos

Unal Kilic,^{1*} Ph.D, Ali Vaiz Garipoglu, ¹ Ph.D,
Emre Gulecyuz,¹ M.Sc, Hasan Onder,¹ Ph.D

¹Ondokuz Mayıs University, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Samsun Turkey.

*Correspondance: unalk@omu.edu.tr

Received: January 2017; Accepted: April 2017.

ABSTRACT

Objective. This study was conducted with the aim of determination of the effects of pellets prepared with addition of different additives (molasses, guar meal and sepiolite) on changes in *in vitro* rumen pH and temperature. **Materials and methods.** In the current study sixteen pelleted feeds were prepared with wheat and soybean straws. The Daisy incubator was used for maintaining (mimicing) rumen conditions and feed was incubated for 48 hours. The wireless rumen sensors were used for determination of the changes in *in vitro* rumen pH and temperature. The data were subjected to one way variance analysis. **Results.** The tested boluses were found to show similar temperature and pH measurements to digital pH metre measurements. The effect of sepiolite addition on pH and temperature was found insignificant in all treatments. The lowest pH value was determined for wheat straws. Control groups and molasses added in soybean straws and wheat straws were similar in terms of ruminal pH values. Guar meal and guar meal+molasses added in soybean straws was shown to increase pH ($p<0.01$). *In vitro* rumen temperatures in soybean straws were found lower compared to those in wheat straws in all treatments ($p<0.001$). **Conclusions.** It was concluded that boluses integrated to Daisy incubator can be safely used for determining the effects of feeds on rumen fermentation in *in vitro* studies.

Keywords: Boluses, forage, *in vitro*, guar meal, animal nutrition, sepiolite (Source: CAB)

RESUMEN

Objetivo. Este estudio se realizó con el fin de determinar los efectos de los pellets preparados con adición de diferentes aditivos (melaza, harina de guar y sepiolita) sobre los cambios en el pH y temperatura *in vitro* del rumen. **Materiales y métodos.** En este estudio, se prepararon dieciséis alimentos peletizados con pajas de trigo y soya. La incubadora Daisy se usó para mantener (imitar) las condiciones del rumen y la alimentación se incubó durante 48 horas. Los sensores de rumen inalámbricos se usaron para la determinación de los cambios en el pH y la temperatura *in vitro* del rumen. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza de una vía. **Resultados.** Se encontró que los bolos evaluados muestran mediciones de temperatura y pH similares a las mediciones del medidor de pH digital. El efecto de la adición de sepiolita sobre el pH y la temperatura fue insignificante en todos los tratamientos. El valor de pH más bajo se determinó para pajas de trigo. La adición de grupos de control y melazas en pajas de soya y paja de trigo fue similar en términos de valores de pH ruminal. Se demostró que la adición de harina de guar y harina

de guar + melazas en pajas de soya aumenta el pH ($p < 0.01$). Las temperaturas *in vitro* del rumen en las pajuelas de soya fueron menores en comparación con las pajas de trigo en todos los tratamientos ($p < 0.001$). **Conclusiones** Se concluyó que los bolos integrados a la incubadora Daisy se pueden utilizar de forma segura para determinar los efectos de los alimentos en la fermentación ruminal en estudios *in vitro*.

Palabras clave: Bolos, forraje, *in vitro*, harina de guar, nutrición animal, sepiolita (Fuente: CAB)

INTRODUCTION

With advancing technology, new approaches came into question in the field of animal nutrition. Use of wireless sensors is one of these new approaches. Recently, some studies are being conducted with the aim of determining the possibilities of using wireless rumen sensors (WRS=Bolus).

By using WRSs, some rumen parameters (pH, temperature and pressure) can be recorded continuously and with this way some data related to rumen fermentation can be obtained instantly. So, some nutrition related disorders can be determined in time (1-4). Furthermore, use of WRSs makes possible to add feeds which improve rumen health into ration. It is also thought that some remarkable achievements can be attained in prevention of subacute rumen acidosis (SARA) in ruminants (3,5-7). Besides, some valuable information related to bloat, animal welfare, mastitis, calving time, drinking behaviour, satiety and rumen-intestine movements can be obtained by using WRSs.

The lack of adequate studies on use of WRSs in ruminant nutrition decreases the reliability of obtained data. The reliable results obtained in limited studies (3,6,8,9), but not in other studies (6). Use of WRSs in animal nutrition experiments and on-farm studies is not common.

In the present study, it was aimed to determine the possibilities of using WRSs in integration with Daisy Incubator with the aim of determining the effects of straws pelleted with different additives on rumen fermentation. Furthermore, the hypothesis of the study was that while molasses and sepiolite addition to straws decreases rumen pH, guar meal addition increases rumen pH.

MATERIALS AND METHODS

Wireless rumen sensors. In the study, 5 WRSs (e-Cow) (Weight: 154.4 g; Length: 13.0 cm; Width: 2.71 cm) which were produced for use in scientific studies (cannulated animals), also, a receiver and a mobil vehicle, in which required software was recorded, were purchased from U.K. The battery life of boluses and optimum working temperatures of

INTRODUCCIÓN

Con el avance de la tecnología, se cuestionaron nuevos enfoques en el campo de la nutrición animal. El uso de sensores inalámbricos es uno de estos nuevos enfoques. Recientemente, se están llevando a cabo algunos estudios con el objetivo de determinar las posibilidades de usar sensores inalámbricos de rumen (WRS = Bolus).

Mediante el uso de WRS, algunos parámetros del rumen (pH, temperatura y presión) se pueden registrar continuamente y, de esta forma, se pueden obtener algunos datos relacionados con la fermentación ruminal a tiempo. Por lo tanto, algunos trastornos relacionados con la nutrición se pueden determinar a tiempo (1-4). Además, el uso de WRS hace posible agregar alimentos que mejoran la salud del rumen en la ración. También se cree que se pueden lograr algunos logros notables en la prevención de la acidosis ruminal subaguda (SARA) en rumiantes (3,5-7). Además, se puede obtener información valiosa relacionada con la hinchazón, el bienestar de los animales, la mastitis, el tiempo de parto, el comportamiento al beber, la saciedad y los movimientos intestinales del rumen mediante el uso de WRS.

La falta de estudios sobre el uso de los WRS en la nutrición de rumiantes disminuye la confiabilidad de los datos obtenidos. Se obtuvieron resultados confiables obtenidos en estudios limitados (3,6,8,9), pero no en otros estudios (6). El uso de WRS en experimentos de nutrición animal y estudios en fincas no es común.

En el presente estudio, se buscó determinar las posibilidades de utilizar los WRS en la integración con la Incubadora Daisy con el objetivo de determinar los efectos de las pajillas peletizadas con diferentes aditivos para la fermentación ruminal. Además, la hipótesis del estudio es que mientras la adición de melaza y sepiolita a la paja disminuye el pH del rumen, la adición de harina de guar aumenta el pH del rumen.

MATERIALES Y METODOS

Sensores de rumen inalámbricos. En el estudio se produjeron para su uso 5 WRS (e-Cow) (Peso: 154,4 g; Longitud: 13,0 cm; Ancho: 2,71 cm) para estudios científicos (animales canulados).

boluses were 90-150 days and 34-40°C, respectively. The boluses have a data storage capacity for 28 days. Each bolus was labeled with a different label (ID).

Rumen fluid collection. Rumen fluid collected from Simmental- breed cow (18 months age) with a developed rumen, slaughtered at a private slaughterhouse with a developed rumen was filtered through two layers of cheesecloth and then was brought to the laboratory in thermos (38-40°C). The pH value of rumen fluid was determined using digital pH meter (Hanna Instruments 1332) with 3 replications. The average rumen pH was determined as 6.15 (6.08-6.51). Ethics approval is not required in this study because, rumen fluid was collected from slaughterhouse.

Preparation of straw pellets and experimental design. Wheat and soybean straws were used as feed material in the study. Eight experimental groups (2 sepiolite applications (+ and -) and 4 different feed groups (control, guar meal, molasses and guar meal+molasses)) were formed for each straw. The application rates for sepiolite, molasses, guar meal and guar meal+molasses were 2, 7, 10 and 17%, respectively. These additives were mixed with straw and then 6 mm-sized pellets were prepared.

Chemical analyses of straw pellets. The samples were milled to pass through a 1 mm sieve before chemical analyses. The ground samples were analyzed for Kjeldahl nitrogen (N) and crude protein (CP) was calculated by multiplying N by 6.25. Dry matter (DM) and ash were determined according to AOAC (10). The neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL) and crude fiber (CF) analysis were done according to the method of Van Soest et al (11) using ANKOM 2000 semi-automated fiber analyzer (Ankom Technology). Ether extract (EE) was determined according to AOCS (12) Am-5-04 procedures by using ANKOM analyzer. The contents of nitrogen free extract (NFE) of sample straws were determined by calculation.

Determination of changes *in vitro* rumen pH and temperatures. The study was conducted between December 30, 2015 and January, 1 2016. Two liters of incubation fluid (1600 ml buffer solution+400 ml rumen fluid) were added to each of 4 jars in Daisy incubator. The bags filled with samples were incubated in the jars with purging CO₂ for 48 hours at 39°C. The pH and temperature values for each treatment in wheat and soybean straws were determined by using WRSs inserted in each jar for 48 hours. The boluses were adjusted for one measurement per 15 minutes as reported

Además, se importaron desde el Reino Unido un receptor y un vehículo móvil, en los que se registró el software requerido. La duración de la batería de los bolos y las temperaturas de trabajo óptimas de los bolos fueron de 90-150 días y 34-40 ° C, respectivamente. Los bolos tienen una capacidad de almacenamiento de datos de 28 días. Cada bolo fue etiquetado independientemente (ID).

Colección de fluidos de rumen El fluido de rumen recolectado de la vaca Simmental (18 meses de edad) sacrificada en un beneficiadero privado con un rumen desarrollado se filtró a través de dos capas de estopilla y luego se llevó al laboratorio en termos (38-40 ° C). El valor de pH del fluido del rumen se determinó usando un medidor de pH digital (Hanna Instruments 1332) con 3 repeticiones. El pH promedio del rumen se determinó como 6.15 (6.08-6.51). La aprobación ética no se requiere en este estudio porque el fluido del rumen se recogió en el matadero.

Preparación de pellets de paja y diseño experimental. Se utilizaron paja de trigo y soja como material de alimentación en el estudio. Se formaron ocho grupos experimentales (2 aplicaciones de sepiolita (+ y -) y 4 grupos de alimentación diferentes (control, harina de guar, melaza y harina de guar + melaza)) para cada paja. Las tasas de aplicación de sepiolita, melaza, harina de guar y harina de guar + melaza fueron 2, 7, 10 y 17%, respectivamente. Estos aditivos se mezclaron con paja y luego se prepararon gránulos de 6 mm de tamaño.

Análisis químicos de pellets de paja. Las muestras se molieron para pasar a través de una abertura de 1 mm antes del análisis químico. Las muestras de suelo se analizaron para Kjeldahl nitrogen (N) y la proteína cruda (CP) se calculó multiplicando N por 6,25. La materia seca (MS) y la ceniza se determinaron de acuerdo con AOAC (10). La fibra detergente neutra (NDF), la fibra detergente ácida (ADF), la lignina detergente ácida (ADL) y el análisis de fibra cruda (CF) se realizaron de acuerdo con el método de Van Soest et al (11) utilizando el analizador de fibra semiautomatizado ANKOM 2000 (Tecnología Ankom). El extracto de éter (EE) se determinó según los procedimientos AOCS (12) Am-5-04 utilizando el analizador ANKOM. El contenido de extracto libre de nitrógeno (NFE) de muestras de pajuelas se determinó por cálculo de ecuación.

Determinación de los cambios en el pH y las temperaturas del rumen *in vitro*. El estudio se realizó entre el 30 de diciembre de 2015 y el 1 de enero de 2016. Se añadieron dos litros de líquido de incubación (1600 ml de solución tampón + 400 ml de fluido en el rumen) a cada

by Hanusovsky et al (13). Prior to use, each bolus was calibrated for pH 4 and pH 7 via mobil vehicle, which contains software, and computer and then data flow was monitored at least for 20 minutes. The pH and temperature measurements of boluses were tested by using a digital pH meter (Hanna Instruments 1332). The boluses were stored in water bath (38°C) until use. The boluses were inserted in jars of Daisy incubator at the same time. Data were transferred from boluses to mobil vehicle for 6 hour intervals.

Statistical Analyses. Data related to *in vitro* rumen pH and temperatures were subjected to one way analysis of variance and Duncan test was used for the mean comparisons.

RESULTS

Chemical compositions of straw pellets.

The nutrient contents and cell wall contents of the straw pellets are given in Table 1. Soybean straw had higher CF and CP contents compared to wheat straw ($p < 0.001$). Furthermore, it is seen that use of additives lead to changes in nutrient composition of straw pellets. Thus, CP contents of pelleted straws increased due to use of guar meal. Soybean straws are shown to have higher ADL contents than wheat straws.

uno de los 4 recipientes en la incubadora Daisy. Las bolsas llenas con muestras se incubaron en los frascos con CO₂ purgado durante 48 horas a 39°C. Los valores de pH y temperatura para cada tratamiento en pajas de trigo y soya se determinaron mediante el uso de WRS insertados en cada tarro durante 48 horas. Los bolos se ajustaron para una medición de 15 minutos según lo informado por Hanusovsky et al (13). Antes del uso, cada bolo se calibró a pH 4 y pH 7 mediante un vehículo móvil, que contiene computadora y software, y luego se controló el flujo de datos al menos durante 20 minutos. Las mediciones de pH y temperatura de los bolos se midieron usando un medidor de pH digital (Hanna Instruments 1332). Los bolos se almacenaron en un baño de agua (38°C) hasta su uso. Los bolos se insertaron en frascos de la incubadora Daisy al mismo tiempo. Los datos se transfirieron de los bolos al vehículo móvil durante intervalos de 6 horas.

Análisis estadístico. Los datos relacionados con el pH y las temperaturas del rumen *in vitro* se sometieron a un análisis de varianza de una vía y se utilizó la prueba de Duncan para las comparaciones de medias.

Table 1. Nutrient contents of feeds used in the experiment, %

Samples	DM	Ash	CP	EE	CF	NFE	NDF	ADF	ADL
Wheat Cont-	90.46 ±0.06e	7.57 ±0.28de	4.19 ±0.00e	0.56 ±0.09	38.51 ±0.66de	39.63 ±0.87a	69.36 ±0.41b	42.42 ±0.41def	4.77 ±0.18e
Wheat Cont+	91.44 ±0.01c	7.47 ±0.31de	3.54 ±0.06e	0.67 ±0.35	38.91 ±0.93cde	40.85 ±1.36a	72.49 ±0.72a	43.48 ±0.46cde	5.48 ±0.60e
Wheat M-	88.90 ±0.05g	8.19 ±0.22cd	6.16 ±0.05d	1.25 ±0.31	40.47 ±0.91b-e	32.84 ±1.05cd	68.05 ±0.51bc	42.16 ±0.22def	6.20 ±0.28e
Wheat M+	87.84 ±0.07i	9.56 ±0.28b	4.46 ±1.62e	0.89 ±0.33	38.19 ±2.88de	34.75 ±1.11bc	66.13 ±0.56cd	40.46 ±0.42f	5.47 ±0.54e
Wheat G-	91.84 ±0.03b	6.92 ±0.15ef	6.26 ±0.11d	0.79 ±0.22	39.32 ±1.72b-e	38.54 ±1.72ab	69.48 ±0.44b	42.01 ±0.69ef	4.90 ±0.40e
Wheat G+	92.35 ±0.01a	8.65 ±0.27c	6.63 ±0.10d	0.33 ±0.14	38.06 ±2.05de	38.68 ±1.76ab	69.16 ±0.41b	42.03 ±0.14ef	4.96 ±0.42e
Wheat GM-	88.50 ±0.10h	7.55 ±0.29de	10.44 ±0.19a	0.78 ±0.26	36.30 ±1.67e	33.43 ±1.83cd	65.44 ±0.28d	40.44 ±0.23f	5.16 ±0.07e
Wheat GM+	87.65 ±0.19i	8.59 ±0.41c	8.73 ±0.15bc	0.62 ±0.12	38.04 ±2.43de	31.67 ±2.63cde	64.76 ±0.63d	39.76 ±0.31f	4.82 ±0.33e
Soybean Cont-	88.76 ±0.12g	7.57 ±0.30de	7.46 ±0.17cd	0.58 ±0.05	43.91 ±1.38abc	29.24 ±1.45def	66.59 ±0.44cd	52.22 ±0.80a	14.27 ±0.45a
Soybean Cont+	90.91 ±0.05d	7.61 ±0.46de	4.17 ±0.01e	0.77 ±0.14	47.47 ±1.23a	30.88 ±0.73cde	65.90 ±0.03d	52.15 ±0.40a	11.55 ±0.18cd
Soybean M-	84.68 ±0.12l	10.04 ±0.20b	6.95 ±0.03d	0.51 ±0.43	42.69 ±1.28a-d	24.50 ±0.54fg	59.40 ±1.02e	45.65 ±1.23bc	13.44 ±0.12ab
Soybean M+	85.84 ±0.09k	12.65 ±0.29a	6.91 ±0.21d	0.47 ±0.11	38.70 ±1.34cde	27.13 ±1.25ef	56.87 ±0.37f	45.97 ±2.06bc	11.93 ±1.14bc
Soybean G-	90.20 ±0.12f	13.34 ±0.19a	10.08 ±0.44ab	0.71 ±0.32	35.56 ±0.82e	30.51 ±1.01cde	52.80 ±0.59g	40.86 ±0.88ef	10.93 ±0.34cd
Soybean G+	90.13 ±0.03f	12.94 ±0.22a	9.48 ±0.07ab	0.24 ±0.04	39.62 ±1.53b-e	27.85 ±1.72ef	56.35 ±1.37f	42.30 ±0.85def	10.27 ±0.14d
Soybean GM-	84.01 ±0.09m	6.38 ±0.38f	10.69 ±0.64a	0.69 ±0.37	44.2 ±1.09ab	22.00 ±1.64g	60.37 ±0.85e	47.27 ±0.49b	12.34 ±0.47bc
Soybean GM+	86.87 ±0.06j	12.68 ±0.19a	9.42 ±0.03ab	0.62 ±0.28	42.6 ±2.00a-d	21.52 ±2.14g	59.12 ±0.73e	44.77 ±1.10bcd	12.10 ±0.77bc
Significant	<0.001	<0.001	<0.001	0.622	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

DM: Dry matter, CP: Crude protein, EE: Ether extract, CF: Crude fiber, NFE: Nitrogen free extracts, NDF: Neutral detergent fiber, ADF: Acid detergent fiber, ADL: Acid detergent lignin; Wheat Cont-: wheat control, Wheat Cont+: wheat control with sepiolite, Wheat M-: wheat molasses, Wheat M+: wheat molasses with sepiolite, Wheat G-: wheat guar meal, Wheat G+: wheat guar meal with sepiolite, Wheat GM-: wheat guar meal+molasses, Wheat GM+: wheat guar meal+molasses with sepiolite, Soybean Cont-: soybean control, Soybean Cont+: soybean control with sepiolite, Soybean M-: soybean molasses, Soybean M+: soybean molasses with sepiolite, Soybean G-: soybean guar meal, Soybean G+: soybean guar meal with sepiolite, Soybean GM-: soybean guar meal+molasses, Soybean GM+: soybean guar meal+molasses with sepiolite

Determination of changes *in vitro* pH and temperature using wireless rumen sensors.

The pH and temperature measurements of boluses were tested (Table 2) by using a digital pH meter. The pH and temperature values measured by using boluses were found similar to those measured by using digital pH meter. However, one (5 number bolus) of the boluses was not used in *in vitro* study due to calibration problems.

In vitro rumen pH and temperature data (total 192 measurements) were regularly transferred for 48 hours (incubation period). As expected, the pH values decreased with time. The initial pH value (7.71) was continuously decreased to lower value (6.33) after 48 hours. The same trend occurred in all boluses. The temperatures were determined between 38.7 and 38.8°C. However, the same trend can not be expected in living animals due to the fact that animals drink water and also ruminate continuously and so rumen is continuously buffered.

Added groups. *In vitro* rumen temperatures were lower for soybean straws compared to those for wheat straws ($p < 0.001$). However, sepiolite addition did not affect rumen pH in all treatments for each straw. The lowest rumen temperatures were determined for guar meal added and guar meal+molasses added wheat and soybean straws. This might be attributed to increase in rumen pH. The guar meal addition led to increase in *in vitro* rumen pH (Figure 1 and 2).

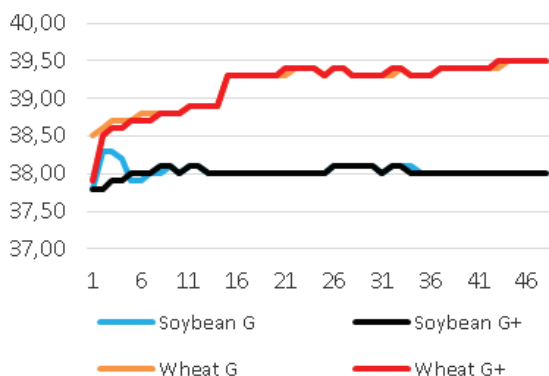


Figure 1. Temperature changes in guar meal added groups, °C

RESULTADOS

Composiciones químicas de pellets de paja.

El contenido de nutrientes y el contenido de la pared celular de los gránulos de paja se muestran en la Tabla 1. La paja de soja presentó un mayor contenido de CF y CP en comparación con la paja de trigo ($p < 0,001$). Además, se observó que el uso de aditivos conduce a cambios en la composición de los nutrientes en los gránulos de paja. Por lo tanto, el contenido de CP de pajillas peletizadas aumentó debido al uso de harina de guar. Se ha demostrado que las pajas de soja tienen un contenido de ADL más alto que las pajas de trigo.

Determinación de los cambios en el pH y la temperatura *in vitro* utilizando sensores de rumen inalámbricos.

Las mediciones de pH y temperatura de los bolos se comprobaron (Tabla 2) utilizando un medidor de pH digital. Los valores de pH y temperatura medidos mediante el uso de bolos se encontraron similares a los medidos mediante el uso de medidor de pH digital. Sin embargo, uno (bolos de 5 números) de los bolos no se utilizó en el estudio *in vitro* debido a problemas de calibración.

Los datos *in vitro* de pH y temperatura del rumen (192 mediciones en total) se transportaron regularmente durante 48 horas (período de incubación). Como se esperaba, los valores de pH disminuyeron con el tiempo. El valor de pH inicial (7.71) se redujo continuamente a un

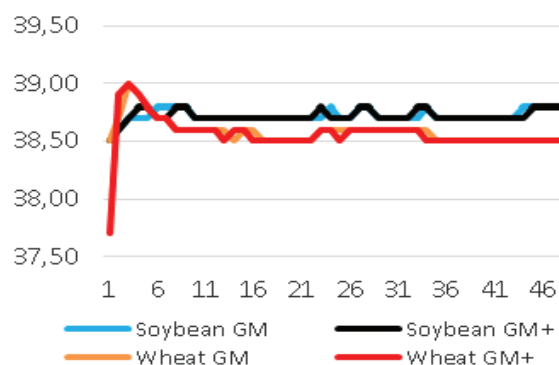


Figure 2. Temperature changes in guar meal+molasses added groups, °C

Table 2. Test results of wireless rumen sensors*

Measurement	Bolus 1	Bolus 2	Bolus 3	Bolus 4	Bolus 5	pH meter
Temperature, °C	37.5-37.5	37.5-37.6	37.5-37.6	37.5-37.5	37.5-37.6	37.5-37.6
pH (4.0)	4.02-4.05	4.02-4.06	4.01-4.04	4.03-4.05	4.03-4.10	4.01-4.03
pH (7.0)	7.01-7.05	7.01-7.03	7.00-7.02	7.01-7.03	7.02-7.07	7.01-7.03
pH (10.0)	10.01-10.04	9.98-10.03	10.00-10.02	10.01-10.04	9.99-10.07	10.01-10.03

* Five synchronous measurements were made and the lowest and highest values (minimum-maximum) were given.

DISCUSSION

The chemical compositions of samples are in agreement with those of Wang et al (14) and Mohamoud Abdi (15). The sepiolite addition led to decrease in CP content of pelleted straws as reported by Gulecyuz (16).

Gaughan (3) compared the WRS with manual pH measurements and then he reported that ruminal pH values measurement with WRS were between 5.48-5.77 in concentrates, 7.18-7.28 in hays and mixed feeds (hay/concentrates) were between 6.22-6.85. Phillips et al (6), reported that manual pH measurements (average 6.64) were similar to pH values (7.03) determined by using boluses. Dado and Allen (17), Penner et al (18), Penner et al (19) and Phillips et al (6), reported a high correlation ($r^2 = 0.85-0.95$) between manual pH measurements and those determined by using boluses. These findings are in agreement with our findings. However, it was reported that pH measurements by boluses might be differed at different hours of a day (3,13,20,21) and also that there might be significant differences between pH measurements determined manually and those determined by using boluses. These differences might be attributed to the differences in rumen fluid sampling techniques or standard pH meters (9).

The pH and temperature values for 48 hours incubation period are given in Table 3 and Figure 1-8. Sepiolite addition did not affect pH in all treatments. Wheat straws showed lowest ruminal pH value. Control groups and molasses added soybean straws and wheat straws were similar in terms of *in vitro* rumen pH values (Figure 3-6). Guar meal and guar meal+molasses addition increased pH value in soybean straws. This might be caused by addition of guar meal which is a high protein source. Proteinous feeds (compounds) increase rumen pH via their contribution in ruminal ammonia synthesis (22).

The average pH value determined in present study was found higher than pH value reported by Desnoyers et al (9). This can be attributed to use of different feeds in the two studies. In the present study, use of forage led to increase in rumen pH. Castro-Costa et al (8), monitored the rumen temperature and pH changes in milk goats fed on different rations (70 and 50% forage) and under different climatic conditions (20-23°C and 30-37°C) by using boluses. The researchers found 0.31 unit higher pH values in goats fed on ration with higher forage content (70%) (6.56 vs 6.25) and 0.12 unit lower pH values in goats raised under high ambient temperature (30-37°C) (6.55 vs 6.43). The rumen temperature

valor inferior (6.33) después de 48 horas. La misma tendencia ocurrió en todos los bolos. Las temperaturas se determinaron entre 38.7 y 38.8°C. Sin embargo, no se puede esperar la misma tendencia en animales vivos debido al hecho de que los animales beben agua y también rumian continuamente, por lo que el rumen se amortigua continuamente.

Grupos agregados Las temperaturas *in vitro* del rumen fueron más bajas para las pajas de soya en comparación con las pajas de trigo ($p < 0.001$). Sin embargo, la adición de sepiolita no afectó el pH del rumen en ninguno de los tratamientos de cada paja. Las temperaturas ruminales más bajas se determinaron para la harina de guar añadida y la harina de guar + melazas para agregar pajas de trigo y soya. Esto podría atribuirse al aumento en el pH del rumen. La adición de harina de guar condujo a un aumento en el pH del rumen *in vitro* (Figuras 1 y 2).

DISCUSIÓN

Las composiciones químicas de las muestras concuerdan con las de Wang et al (14) y Mohamoud Abdi (15). La adición de sepiolita condujo a una disminución en el contenido de CP de las pajillas peletizadas según lo informado por Gulecyuz (16).

Gaughan (3) comparó el WRS con las mediciones manuales de pH y luego informó que los valores de pH ruminal medidos con WRS estaban entre 5.48-5.77 en concentrados, 7.18-7.28 en henos y los alimentos mezclados (heno/concentrados) estaban entre 6.22-6.85. Phillips et al (6), informaron que las mediciones de pH de manuales (promedio de 6,64) fueron similares a los valores de pH (7.03) determinados mediante el uso de bolos. Dado y Allen (17), Penner et al (18), Penner et al (19) y Phillips et al (6), informaron una alta correlación ($r^2 = 0.85-0.95$) entre las mediciones de pH manuales y las determinadas mediante el uso de bolos. Estos hallazgos concuerdan con nuestros hallazgos. Sin embargo, se informó que las mediciones de pH por bolos podrían diferir a diferentes horas del día (3,13,20,21) y también que podría haber diferencias significativas entre las mediciones de pH determinadas manualmente y las que se determinan mediante el uso de bolos. Estas diferencias pueden atribuirse a las diferencias en las técnicas de muestreo de fluidos del rumen o en los medidores de pH estándar (9).

Los valores de pH y temperatura para el período de incubación de 48 horas se dan en la Tabla 3 y la Figura 1-8. La adición de sepiolita no afectó el pH en ninguno de los tratamientos. La paja de trigo mostró el valor de pH ruminal más bajo. La adición

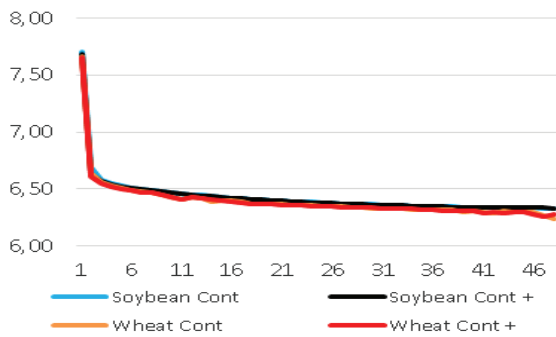


Figure 3. pH change in control groups

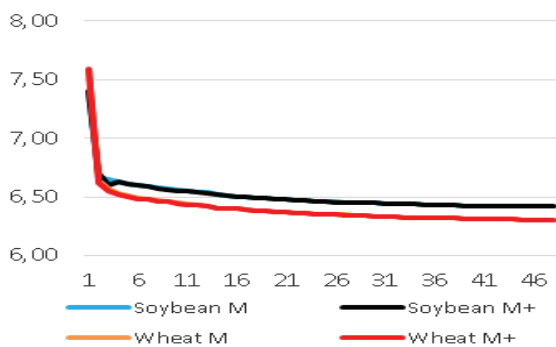


Figure 4. pH change in molassed groups

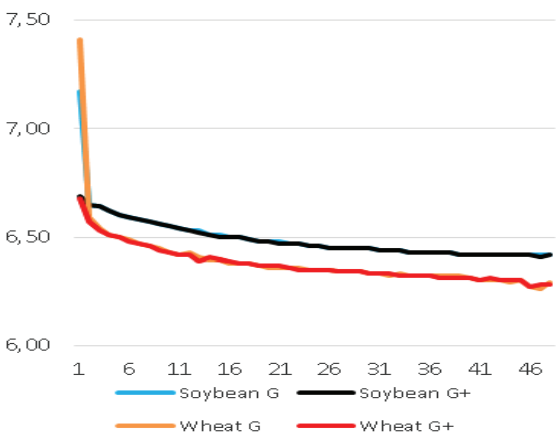


Figure 5. pH change in guar meal added groups

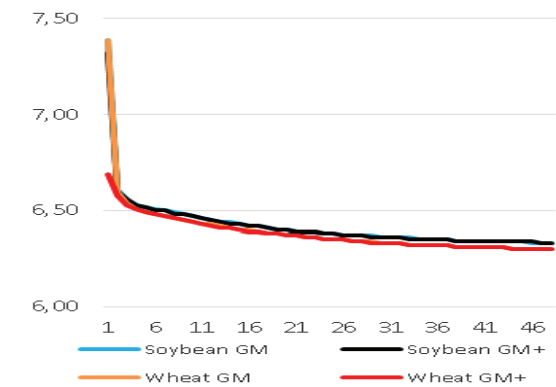


Figure 6. pH change in guar meal+molasses added groups

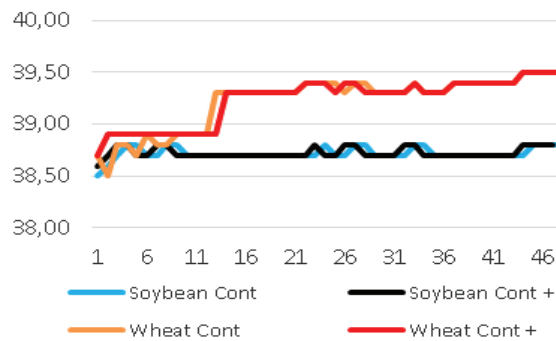


Figure 7. Temperature changes in control groups, °C

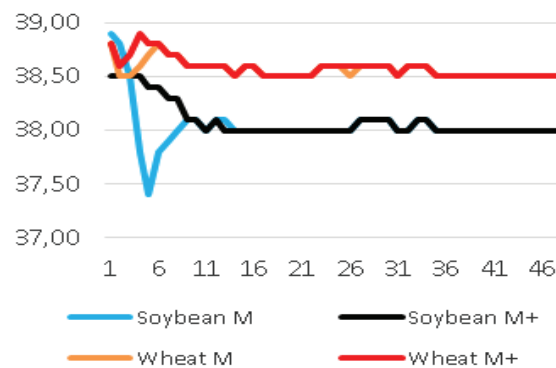


Figure 8. Temperature changes in molassed groups, °C

was found similar for two ration types (38.82°C for high forage ration and 38.92 °C for low forage ration), but it was higher (39.9°C) in goats raised under high temperature (30-37°C) compared to that (39.6°C) in goats raised under normal temperature (20-23°C). These researchers reported that boluses could give reliable results related to rumen pH and temperature and also that the water consumptions could be determined by increase in rumen pH. The average pH values determined in the present study (6.38 and 6.51)

de grupos de control y melazas en pajas de soja y paja de trigo fue similar en términos de valores de pH ruminal *in vitro* (Figura 3-6). La harina guar y la harina de guar + adición de melaza aumentaron el valor de pH en las pajas de soja. Esto podría ser causado por la adición de harina de guar que es una fuente de alto contenido proteínico. Los alimentos proteínicos (compuestos) aumentan el pH del rumen a través de su contribución en la síntesis de amoníaco ruminal (22).

Table 3. Average *in vitro* pH and temperature changes for 48 hour incubation determined by using wireless rumen sensors

Feed	Average pH	Min.-Max. pH	Average temperature, °C
Wheat Cont-	6.40 ± 0.03 ^d	6.24-7.67	39.23 ± 0.04 ^a
Wheat Cont+	6.40 ± 0.03 ^d	6.26-7.66	39.24 ± 0.03 ^a
Soybean Cont-	6.43 ± 0.03 ^{abcd}	6.33-7.71	38.72 ± 0.01 ^b
Soybean Cont+	6.43 ± 0.03 ^{bcd}	6.33-7.69	38.72 ± 0.01 ^b
Wheat M-	6.39 ± 0.02 ^d	6.30-7.39	39.19 ± 0.04 ^a
Wheat M+	6.38 ± 0.01 ^d	6.30-6.69	39.18 ± 0.05 ^a
Soybean M-	6.42 ± 0.02 ^{cd}	6.33-7.39	38.73 ± 0.01 ^b
Soybean M+	6.42 ± 0.02 ^{cd}	6.33-7.32	38.73 ± 0.01 ^b
Wheat G-	6.40 ± 0.03 ^d	6.30-7.59	38.56 ± 0.01 ^c
Wheat G+	6.40 ± 0.03 ^d	6.30-7.58	38.58 ± 0.01 ^c
Soybean G-	6.51 ± 0.02 ^a	6.42-7.39	38.04 ± 0.03 ^{de}
Soybean G+	6.50 ± 0.02 ^a	6.42-7.40	38.09 ± 0.02 ^d
Wheat GM-	6.39 ± 0.02 ^d	6.26-7.41	38.58 ± 0.02 ^c
Wheat GM+	6.38 ± 0.01 ^d	6.27-6.68	38.56 ± 0.02 ^c
Soybean GM-	6.50 ± 0.02 ^{ab}	6.42-7.17	38.03 ± 0.01 ^{de}
Soybean GM+	6.49 ± 0.01 ^{abc}	6.41-6.69	38.01 ± 0.01 ^e
Significant	<0.001		<0.001

Wheat Cont-: wheat control, Wheat Cont+: wheat control with sepiolite, Wheat M-: wheat molasses, Wheat M+: wheat molasses with sepiolite, Wheat G-: wheat guar meal, Wheat G+: wheat guar meal with sepiolite, Wheat GM-: wheat guar meal+molasses, Wheat GM+: wheat guar meal+molasses with sepiolite, Soybean Cont-: soybean control, Soybean Cont+: soybean control with sepiolite, Soybean M-: soybean molasses, Soybean M+: soybean molasses with sepiolite, Soybean G-: soybean guar meal, Soybean G+: soybean guar meal with sepiolite, Soybean GM-: soybean guar meal+molasses, Soybean GM+: soybean guar meal+molasses with sepiolite

were found similar to those reported by Castro-Costa et al (8).

If the ruminal pH become less than 5.75, it will be subacute rumen acidosis (5). But there is no SARA problem in this study for using roughage. The lowest, highest and average rumen pH values in dairy cows were reported as 5.30, 7.39 and 6.28, respectively, by Hanušovský et al (13). Giger-Reverdin et al (23), reported pH values as 6.28 in goats fed on ration with 70:30 forage/concentrate ratio and as 5.96 in those fed on ration with 30:70 forage/concentrate ratio by using boluses. The researchers reported that there was SARA risks in goats fed on concentrate based diet. It seems that, use of rumen sensors has a big potential for diagnosing and preventing SARA. Castro-Costa et al (8), Wahrmond et al (24) and Loholter et al (21) reported that the rumen pH decreased and rumen temperature increased with increasing time after feeding. The same trend was observed in the present study.

El valor de pH promedio determinado en el presente estudio se encontró por encima del valor de pH informado por Desnoyers et al (9). Esto se puede atribuir al uso de diferentes fuentes en los dos estudios. En el presente estudio, el uso de forraje condujo a un aumento en el pH del rumen. Castro-Costa et al (8), monitorearon la temperatura ruminal y los cambios de pH en las cabras lecheras alimentadas con diferentes raciones (70 y 50% de forraje) y bajo diferentes condiciones climáticas (20-23°C y 30-37°C) mediante el uso de bolos. Los investigadores encontraron valores de 0,31 unidades de pH más altos en cabras alimentadas con más contenido de forraje (70%) (6.56 frente a 6.25) y 0.12 unidades menos de pH en cabras criadas a temperatura ambiente alta (30-37°C) (6.55 frente a 6.43). La temperatura ruminal fue similar para dos tipos de raciones (38.82°C para la ración alta de forraje y 38.92°C para la ración baja de forraje), pero fue mayor (39.9°C) en las cabras criadas a alta temperatura (30-37°C) en comparación (39.6°C) en cabras criadas a temperatura normal (20-23°C). Estos investigadores informaron que los bolos podrían dar resultados confiables relacionados con el pH y la temperatura del rumen y también que el consumo de agua podría determinarse por el aumento en el pH del rumen. Los valores de pH promedio determinados en el presente estudio (6.38 y 6.51) fueron similares a los reportados por Castro-Costa et al (8).

Si el pH ruminal es menor a 5.75, será una acidosis ruminal subacuática (5). Pero no hay ningún SARA en este estudio para usar forraje. Los valores de pH ruminal más bajo, más alto y promedio en vacas lecheras fueron reportados en 5.30, 7.39 y 6.28, respectivamente, por Hanušovský et al (13). Giger-Reverdin et al (23), informaron valores de pH de 6,28 en cabras alimentadas con ración con una relación de 70:30 forraje/concentrado y de 5,96 en aquellos alimentados con ración con relación de forraje/concentrado de 30:70 mediante el uso de bolos. Los investigadores informaron que existían riesgos de SARA en cabras alimentadas con dieta concentrada. Como se ve, el uso de sensores de rumen tiene un gran potencial para diagnosticar y prevenir SARA.

Castro-Costa et al (8), Wahrmond et al (24) y Loholter et al (21) informaron que el pH del rumen disminuyó y la temperatura del rumen aumentó al aumentar el tiempo después de la alimentación. La misma tendencia se observó en el presente estudio.

Castro-Costa et al (8) determinaron el pH del rumen en 38.9°C mediante el uso de bolos e informaron que las diferentes dietas no afectaron la temperatura ruminal. Alzahal et al (25) y

Castro-Castro et al (8) determined rumen temperature as 38.9°C by using boluses and they reported that the different diets did not affect the rumen temperature. Alzahal et al (25) and Loholter et al (21) reported that high concentrate diets (40-65%) led to increase in rumen temperature. Heat, which is a by product of microbial fermentation, reaches the peak level more quickly in ruminants consuming high concentrate diets (26). Our findings related to this subject are in agreement with the previous studies.

In *in vitro* studies, the activities such as rumination and drinking water which strongly affect rumen pH are not taken into account. Therefore, in *in vivo* studies, ruminal pH value may increase at sometimes. Besides, it can change individual difference of animals (3). This can lead to erroneous pH measurements. In the present study, the data were obtained under controlled conditions. These data might be different from those obtained on live animals because, the locations (rumen, reticulum) at which boluses are located have significant effect on the obtained data (1,7,27). Thus, it is known that different pH values can be determined in rumen and reticulum compartments of an animal in the same day. It is also known that substantial changes can occur in reticulum temperature due to water consumption (4,8). Furthermore, rumen environmental conditions (bacteria colonization etc.) can lead to change in rumen pH. The diurnal ruminal pHs can differ from an animal to another (9). This fact indicates that the *in vitro* method used in the present study is a promising method due to its reliability and ease of application. Our findings show that the boluses can be integrated to the *in vitro* systems.

In the study, temperature controlled Daisy incubator was used and temperature change was not allowed. For this reason, the temperature data obtained in the present study were expected to be similar. The existence of differences in temperature data obtained in present study point out that temperature measurements might be disputable.

In conclusion it is expected that WRSs will have widespread use in near future. These sensors supply information related to the rumen conditions of experimental animals. The sensors which can adapt to many research programmes have an ease of application in rumen fistulated animals. Furthermore, they remove the need to collect rumen fluid (7). The present study showed that the pH and temperature data can be obtained at willed time intervals. Thus, it is possible to determine the effects of feeds and treatments on

Loholter et al (21) reportaron que las dietas con alto contenido de concentrado (40-65%) llevaron a un aumento de la temperatura ruminal. El calor, que es un subproducto de la fermentación microbiana, alcanza el nivel máximo más rápidamente en los rumiantes que consumen dietas con alto contenido de concentrados (26). Nuestros hallazgos relacionados con este tema concuerdan con los estudios previos.

En estudios *in vitro*, no se consideran actividades como la rumia y el agua potable que afectan fuertemente el pH del rumen. Por lo tanto, en estudios *in vivo*, el valor del pH ruminal puede aumentar. Además, puede cambiar la diferencia individual de los animales (3). Esto puede conducir a mediciones de pH erróneas. En el presente estudio, los datos se obtuvieron bajo condiciones controladas. Estos datos pueden ser diferentes de los obtenidos en animales vivos porque las ubicaciones (rumen, retículo) en las que se encuentran los bolos tienen un efecto significativo en los datos obtenidos (1,7,27). Por lo tanto, se sabe que se pueden determinar diferentes valores de pH en compartimentos de rumen y retículo de un animal en el mismo día. También se sabe que pueden ocurrir cambios sustanciales en la temperatura del retículo debido al consumo de agua (4,8). Además, las condiciones ambientales del rumen (colonización de bacterias, etc.) pueden provocar cambios en el pH del rumen. Los pH ruminales diurnos pueden diferir de un animal a otro (9). Este hecho indica que el método *in vitro* utilizado en el presente estudio es un método prometedor debido a su fiabilidad y facilidad de aplicación. Nuestros hallazgos muestran que los bolos se pueden integrar a los sistemas *in vitro*.

En el estudio, se usó incubadora Daisy con temperatura controlada y no se permitió el cambio de temperatura. Por esta razón, se esperaba que los datos de temperatura obtenidos en el presente estudio fueran similares. La existencia de diferencias en los datos de temperatura obtenidos en el presente estudio señala que las mediciones de temperatura pueden ser discutibles.

En conclusión, se espera que los WRS tengan un uso generalizado en un futuro próximo. Estos sensores proporcionan información relacionada con las condiciones del rumen de los animales de experimentación. Los sensores que se pueden adaptar a muchos programas de investigación tienen una facilidad de aplicación en animales fistulados en el rumen. Además, eliminan la necesidad de recoger el fluido del rumen (7). El presente estudio mostró que los datos de pH y temperatura se pueden obtener a intervalos de tiempo deseados. Por lo tanto, es posible determinar los efectos de los alimentos y los

rumen fermentation by using the data obtained from the boluses. The short battery lives (nearly 3-4 months) and high prices prevent common use of boluses. For this reason, further researches should be conducted for developing low-cost and long-lived boluses in future. Furthermore, it might be possible to determine the contents of volatile fatty acids, ammonia and methane in rumen by using boluses. More detailed *in vitro* and *in vivo* researches are needed in this topic.

Acknowledgements

This research was supported by TUBITAK (TOVAG 1150912).

tratamientos sobre la fermentación ruminal mediante el uso de los datos obtenidos mediante el uso de bolos. Las cortas duraciones de la batería (casi 3-4 meses) y los altos precios impiden el uso común de los bolos. Por esta razón, se deben realizar más investigaciones para desarrollar bolos de bajo costo y de larga duración en el futuro. Además, podría ser posible determinar el contenido de ácidos grasos volátiles, amoníaco y metano en el rumen mediante el uso de bolos. Se necesitan investigaciones más detalladas *in vitro* e *in vivo* en este tema.

Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por TUBITAK (TOVAG 1150912).

REFERENCES

- Mottram T, Lowe J, McGowan M, Phillips N. Technical note: A wireless telemetric method of monitoring clinical acidosis in dairy cows. *Computers and Electronics in Agriculture* 2008; 64(1):45-48.
- AlZahal O, Kebreab E, France J, Froetschel M, McBride BW. Ruminant temperature may aid in the detection of subacute ruminal acidosis. *J Dairy Sci* 2008; 91(1):202-207.
- Gaughan J. Report to Kahne Limited, Evaluation of the KB1000 Series Bolus. School of Animal Studies, The University of Queensland: Gatton QLD, Australia; 2010.
- Cruz G. The benefits, challenges and future of rumen pH sensors. (Accessed date:17.03.2015). 2014. URL Available in: <http://www.progressivecattle.com/topics/herd-health/6485-the-benefits-challenges-and-future-of-rumen-ph-sensors>
- Atkinson O. Prevalence of subacute ruminal acidosis (SARA) on UK dairy farms. *Cattle Practice* 2014; 22(1):1-9
- Phillips N, Mottram T, Poppi D, Mayer D, McGowan M.R. Continuous monitoring of ruminal pH using wireless telemetry. *Animal Production Science* 2010; 50:72-77.
- Kilic U. Usage of Wireless Rumen Sensors in Ruminant Nutrition and Scientific Research. *Yem Magazine Journal* 2016; 24(75):31-44.
- Castro-Costa A, Salama AA, Moll X, Aguiló J, Caja G. Using wireless rumen sensors for evaluating the effects of diet and ambient temperature in nonlactating dairy goats. *J Dairy Sci* 2015; 98(7):4646-58.
- Desnoyers M, Giger-Reverdin S, Sauvant D, Duvaux-Ponter C. The use of a multivariate analysis to study between-goat variability in feeding behavior and associated rumen pH patterns. *Journal of dairy science* 2011; 94(2):842-852.
- AOAC. Official Methods of Analysis. 16th Edition, AOAC International, Gaithersburg, MD. 1998.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Levis BA. Method for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J Dairy Sci* 1991; 74:3583-3597.
- AOCS. Official procedure, approved procedure Am 5-04, Rapid determination of oil/fat utilizing high temperature solvent extraction. American Oil Chemists Society, Urbana, IL. 2005.
- Hanušovský O, Bíro D, Šimko M, Gálik B, Juráček M, Rolinec M, Majlát M, Herkeľ R. Continual monitoring of reticulorumenal pH of dairy cows during 45 days. *Acta Fytotechn Zootech* 2015; 18(3):53-55.

14. Wang C, Song E, Wang Z, Liu X, Nian H, Zhang J. Variations in the nutritive value of soybean straw and their use with agronomic traits for breeding assays. *J Animal & Plant Sci* 2014; 22(1):3399-3406.
15. Mohamoud Abdi A. Effect of lignin peroxidase enzyme on feed values of different straws. [MSc Thesis]. Ondokuz Mayıs University, Sci. Enstitute, Samsun-Turkey 2016.
16. Gülecyüz E. Determining *in vitro* digestibility and methane production of wheat straw and soybean straw pelleted with different additives. [MSc Thesis]. Ondokuz Mayıs University, Sci. Enstitute, Samsun-Turkey 2016.
17. Dado RG, Allen MS. Continuous computer acquisition of feed and water intakes, chewing, reticular motility, and ruminal pH of cattle. *J Dairy Sci* 1993; 76:1589-1600.
18. Penner GB, Beauchemin KA, Mutsvangwa T. An evaluation of the accuracy and precision of a stand-alone submersible continuous ruminal pH measurement system. *J Dairy Sci* 2006; 89:2132-2140.
19. Penner GB, Aschenbach JR, Gäbel G, Oba M. Technical note: Evaluation of a continuous ruminal pH measurement system for use in noncannulated small ruminants. *Anim Sci* 2009; 87:2363-2366.
20. Kaur R, Garcia SC, Horadagoda A, Fulkerson WJ. Evaluation of rumen probe for continuous monitoring of rumen pH, temperature and pressure. *Anim Prod Sci* 2010; 50:98-104.
21. Lohölter M, Rehage R, Meyer U, Lebzien P, Rehage J, Dänicke S. Evaluation of a device for continuous measurement of rumen pH and temperature considering localization of measurement and dietary concentrate proportion. *Landbauforsch Appl Agric Forestry Res* 2013; 63:61-68.
22. Felix TL, Murphy TA, Loerch SC. Effects of dietary inclusion and NaOH treatment of dried distillers grains with solubles on ruminal metabolism of feedlot cattle. *J Anim Sci* 2012; 90:4951-4961.
23. Giger-Reverdin SK, Rigalma M, Desnoyers D, Sauvant C, Duvaux-Ponter. Effect of concentrate level on feeding behavior and rumen and blood parameters in dairy goats: Relationships between behavioral and physiological parameters and effect of between-animal variability. *J Dairy Sci* 2014; 97:4367-4378.
24. Wahrmund JL, Ronchesel JR, Krehbiel CR, Goad CL, Trost SM, Richard CJ. Ruminal acidosis challenge impact on ruminal temperature in feedlot cattle. *J Anim Sci* 2012; 90:2794-2801.
25. AlZahal O, AlZahal H, Steele MA, Van Schaik M, Kyriazakis I, Duffield TF, McBride BW. The use of a radiotelemetric ruminal bolus to detect body temperature changes in lactating dairy cattle. *J Dairy Sci* 2011; 94:3568-3574.
26. Hungate RE. *The Rumen and its Microbes*. Academic Press Inc.; New York, NY: 1996.
27. Kilic U. Use of Wireless Rumen Sensors in Ruminant Nutrition Research. *Asian J Anim Sci* 2011; 5(1):46-55.