



## تأثیر اسانس های گیاهی بر بار اسیدی مایع شکمبه گوسفند در شرایط برون تنی

غزاله بهرامی<sup>۱</sup>، محسن دانش مسگران<sup>۲</sup>، سید علیرضا وکیلی<sup>۳</sup>، اکبر سلیمانی<sup>۴</sup>، حسین جهانی عزیزآبادی<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر، ۲، ۳، ۴، ۵- اعضای هیئت علمی و دانشجوی دکتری دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

هدف این آزمایش بررسی تأثیر برخی از اسانس های گیاهی بر باراسیدی مایع شکمبه گوسفند در شرایط برون تنی در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه (۴۰ درصد علوفه و ۶۰ درصد مواد متراکم، شاهد)، جیره پایه + اسانس برگ آویشن، جیره پایه + اسانس دانه زیره سبز، جیره پایه + اسانس دانه رازیانه و جیره پایه + اسانس نعناع فلفلی بود. هر یک از اسانس ها به میزان ۱ میلی لیتر به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت استفاده شدند. تیمارهای آزمایشی (۴ تکرار برای هر تیمار) به مدت ۲۴ ساعت با ۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده در دمای ۳۸/۶ درجه سانتی گراد در شرایط بی هوازی کشت داده شدند. مایع شکمبه قبل از خوراک صبحگاهی از سه راس گوسفند نر (به وزن  $45 \pm 2$  کیلوگرم) دارای فیستوله شکمبه ای گرفته شد. پس از اتمام دوره کشت pH محیط کشت اندازه گیری شد و سپس ماده خشک باقی مانده روی فیلتر با منافذ ۴۵ میکرومتر تعیین شد. بار اسیدی از طریق اندازه گیری حلالیت کلسیم در محیط کشت پس از آغشته کردن آن با کربنات کلسیم اندازه گیری شد. اسانس آویشن باعث افزایش معنی دار pH محیط کشت در مقایسه با سایر اسانس ها شد. استفاده از اسانس باعث کاهش معنی دار بار اسیدی مایع شکمبه شد ( $P < 0/05$ ). استفاده از اسانس برگ آویشن در محیط کشت باعث کاهش معنی دار نسبت ناپدید شدن ماده خشک جیره پایه شد ( $P < 0/05$ ).

واژه های کلیدی: باراسیدی، اسانس، برگ آویشن، دانه زیره سبز، دانه رازیانه و نعناع فلفلی.

مقدمه

در حال حاضر در جیره های غذایی نشخوار کنندگان به لحاظ دست یابی به بیشینه تولید از جیره هایی با غلظت بالای مواد مغذی استفاده می شود. استفاده از مقادیر بالای مواد متراکم احتمال بروز بیماری های متابولیکی مانند اسیدوز را افزایش می دهد. با افزایش مواد متراکم در جیره، pH شکمبه کاهش می یابد و اگر pH شکمبه به کمتر از ۶ برسد حالت اسیدوز شکمبه ای رخ می دهد که علاوه بر تأثیر منفی بر تولید، احتمال حذف دام را افزایش می دهد (۱۱). برای جلوگیری از بروز اسیدوز شکمبه ای راه های گوناگونی مانند استفاده از مخمرها، میکروارگانیسم ها، تولیدات میکروبی و بافرهای شیمیایی (بیکربنات سدیم و اکسید منیزیم) پیشنهاد شده است (۵). مطالعات اخیر نشان داد که استفاده از عصاره ها و اسانس های گیاهی و یا چاشنی ها فرایند تخمیر شکمبه را بهینه می نماید (۴). هدف این پژوهش بررسی بار اسیدی جیره دارای ۶۰٪ مواد متراکم و ۴۰٪ علوفه در محیط کشت حاوی مایع شکمبه گوسفند، غنی شده با اسانس های برگ آویشن، دانه رازیانه، دانه زیره سبز و نعناع فلفلی بود. مواد و روشها

در این مطالعه از اسانس های نعناع فلفلی، دانه رازیانه، دانه زیره سبز و برگ آویشن استفاده شده است. جیره پایه دارای ۴۰٪ علوفه (علف خشک یونجه با پروتئین خام ۱۷/۷۱ و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۴۵/۷۶) و ۶۰٪ مواد متراکم (ذرت ۳۰٪، جو ۳۴٪، کنجاله سویا ۴/۸٪، تفاله جغندر قند ۵٪، سبوس گندم ۱۰٪، کنجاله تخم پنبه ۱۲٪، کربنات کلسیم ۰/۳٪، نمک ۰/۲٪ و ویتامین پرمیکس ۰/۵٪ با پروتئین خام ۱۸/۰۷٪ و الیاف نامحلول در شوینده خنثی ۲۹/۶۱) بود. جیره پایه با استفاده از آسیاب دارای الک ۱/۵ میلی متری نرم شد و در آن با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد خشک شد. تیمارهای آزمایشی شامل جیره پایه، جیره پایه + اسانس برگ آویشن، جیره پایه + اسانس دانه زیره سبز، جیره پایه + اسانس دانه رازیانه و جیره پایه + اسانس نعناع فلفلی بود (۴ تکرار برای هر تیمار). هر یک از اسانس ها به میزان یک میلی لیتر به ازای هر دسی لیتر محیط کشت استفاده شد. بار اسیدی محیط کشت بر اساس روش ودهوا (۲۰۰۱) تعیین شد. در این روش یک گرم از جیره پایه (به تنهایی و یا همراه با اسانس) داخل شیشه های ۱۲۵ میلی لیتری ریخته شد و به آن ۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده [۶۰٪ بافر رقیق شده پیشنهادی تل و تری (۱۹۶۳) و ۴۰٪ مایع شکمبه] اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در حمام آب گرم با دمای ۳۸/۶ درجه سانتی گراد کشت

داده شد (۱۱). مایع شکمبه قبل از خوراک صبحگاهی از سه رأس گوسفند نر (وزن بدن ۴۵/۲ کیلو گرم) دارای فیستولای شکمبه ای گرفته شد و بلافاصله با استفاده از پارچه متقال چهار لایه صاف شد. گوسفندان روزانه با ۱/۴ کیلوگرم یونجه و ۴۰۰ گرم مواد متراکم (۱۶۵ گرم پروتئین خام در هر کیلو گرم ماده خشک) در دو وعده صبح و عصر تغذیه شدند. پس از اتمام دوره کشت، pH محیط کشت با استفاده از دستگاه pH متر اندازه گیری شد و سپس با فیلتر دارای قطر منافذ ۴۵ میکرومتر صاف شد. سپس ۲ میلی لیتر از مایع حاصل داخل میکروتیوب حاوی ۵۰ میلی گرم کربنات کلسیم (CaCO<sub>3</sub>) ریخته شد و پس از ۵ ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و مایع رویی برداشته شد و با استفاده از دستگاه جذب اتمی غلظت کلسیم آن تعیین شد. بار اسیدی با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد (۱۱):

وزن نمونه (گرم ماده خشک) / (حجم مایع (میلی لیتر) × غلظت کلسیم = باراسیدی (هر گرم ماده خشک خوراک / میلی گرم کلسیم)

باقی مانده روی فیلتر جهت اندازه گیری میزان ناپدید شدن ماده خشک در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد (به مدت ۴۸ ساعت) خشک شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از مدل آماری ذیل انجام شد.

$$Y_i = \mu + T_i + e_i$$

$Y_i$  = مشاهده  $\mu$  = میانگین،  $T_i$  = اثر تیمار  $\mu$  و  $e_i$  = خطای آزمایشی می باشد.

آنالیز آماری با استفاده از مدل GLM نرم افزار SAS صورت گرفت. مقایسه تیمارهای آزمایشی با شاهد (جیره پایه) با استفاده از آزمون دانت در ( $P < 0/05$ ) انجام شد.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای آزمایشی بر pH محیط کشت، ناپدید شدن ماده خشک و باراسیدی محیط کشت حاوی مایع شکمبه گوسفند در جدول ۱ نشان داده شده است. اسانس برگ آویشن باعث افزایش معنی داری در ناپدید شدن ماده خشک و pH محیط کشت نسبت به شاهد شد ( $P < 0/05$ ). تمام اسانس ها به طور معنی داری بار اسیدی محیط کشت را نسبت به گروه شاهد کاهش دادند ( $P < 0/05$ ). مصرف زیاد کربوهیدرات های سریع التخمیر به افزایش اسیدهای آلی در شکمبه و کاهش pH شکمبه ای بین ۵/۲-۵/۶ می شود (اونز و همکاران در سال ۱۹۹۸). روستومو و همکاران در سال ۲۰۰۶ در یک روش آزمایشگاهی بار اسیدی مواد مختلف حاوی نسبت های مختلف پروتئین، نشاسته، فیبر و کربوهیدرات های غیر الیافی را ارزیابی کردند. غذاهایی که حاوی کربوهیدرات های غیر الیافی بودند بار اسیدی بالا، در مواد غذایی حاوی علوفه، بار اسیدی متوسط و در مواد غذایی حاوی پروتئین بالا، بار اسیدی پایین گزارش کردند. دی اسمیت و همکاران در سال ۱۹۹۵، گزارش کردند تفاوت در بار اسیدی غذاها باعث تغییر در pH شد، که احتمالاً به دلیل ارتباط بار اسیدی با قابلیت تخمیر در غذاهاست. گزارشات مبنی بر تأثیر اسانس ها بر تخمیر شکمبه ای، pH و قابلیت هضم جیره وجود دارد (۷). استفاده از روغن سیر باعث افزایش pH، کاهش غلظت اسیدهای چرب فرار و کاهش نسبت پروبیونات به استات شد، همچنین سبب بهبود مصرف انرژی در شکمبه شد (۲). بورچرز در سال ۱۹۹۵ بیان کرد که آویشن بر تخمیر میکروبی شکمبه تأثیر گذار است و باعث کاهش نیتروژن آمونیاکی می شود و دی آمیناسیون را محدود می کند، همچنین تولید متان و لاکتات را کاهش می دهد. آویشن باعث افزایش pH و کاهش هضم مواد غذایی و تولید اسید چرب فرار می شود (۳، ۸ و ۱۰). آویشن اثر ضد میکروبی متوسطی دارد (۹). پارتا و همکارانش (۲۰۰۶) بیان کردند روغن سیر، زیره سبز و میخک متان تولیدی از تخمیر شکمبه ای را کاهش می دهند (۱). رازیانه به طور معنی داری باعث



کاهش تولید متان می شود (۶). تاتسوکا و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که ترکیبات آلفا و بتا سیکلو دکسترین موجود در اسانس نعناع فلفلی اثر معنی داری بر pH شکمبه، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی این اسیدها ندارد. گنزالز و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که بکارگیری اسانس های نعناع فلفلی، اسطوخودوس، نعناع، ریحان، پونه و آویشن (خانواده نعنائیان)، رازیانه، شوید و زیره (خانواده چتریان) در شرایط برون تنی تغییر معنی داری در الگوی تخمیر شکمبه خصوصا کاهش تولید متان ایجاد نکرده، تنها تغییرات ناچیزی را منجر می گردند. هریستو و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش نمودند که اسانس های نعناع فلفلی، آویشن، پونه کوهی، اسطوخودوس و ریحان تاثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی استات، پروپیونات، بوتیرات و غلظت آمونیاک در کشت کوتاه مدت نداشتند. آنها همچنین مشاهده کردند که اسانس های نعناع فلفلی، اسطوخودوس و پونه کوهی باعث کاهش معنی داری در PH شکمبه شدند. در حالیکه اسانس های ریحان، نعناع و آویشن اثر معنی داری بر PH شکمبه نداشتند. این محققان همچنین گزارش کردند که اسانس نعناع باعث افزایش نسبت مولی استات گشت در حالیکه بر دیگر پارامترهای تخمیر شکمبه تاثیری نداشت. جازانی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که اجزای فعال اصلی موجود در اسانس رازیانه عبارتند از: آنتیول به مقدار ۵۰ تا ۶۰ درصد، فنچون به مقدار ۱۰ تا ۲۰ درصد و لیمونن به مقدار ۵ درصد. کاستیلجوس و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند که مقادیر بالای لیمونن (۵۰، ۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر) باعث کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار می گردد اما بر غلظت پروپیونات و آمونیاک تاثیری ندارد. آنها همچنین گزارش کردند که مقدار ۵ میلی گرم بر لیتر از لیمونن تاثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، پروپیونات و آمونیاک ندارد. مارتینز و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که افزودن اسانس آویشن به مقدار ۱/۳۵ میلی گرم بر لیتر به جیره باعث کاهش غلظت کل اسیدهای چرب فرار، نسبت مولی پروپیونات و تجزیه ماده خشک گشت. ایوانز و مارتین (۲۰۰۰) گزارش کردند که به کارگیری اسانس های آویشن و پونه باعث کاهش غلظت های استات، پروپیونات و تولید متان می گردند. نتایج این آزمایش نشان داد که اسانس های مورد استفاده در این آزمایش، به جز آویشن، تأثیر معنی داری بر ناپدید شدن ماده خشک نداشتند. بنابراین به نظر می رسد که استفاده از اسانس گیاهان دارویی مورد مطالعه در این آزمایش می تواند بار اسیدی مایع شکمبه را بدون تأثیر معنی دار بر ناپدید شدن ماده خشک کاهش دهد.

**Effects of various plant essential oils on in vitro rumen acid load of sheep**  
**Bahrami, Gh., M. Danesh Mesgaran, A. R. Vakikli, A. Soleimani and H. Jahani-Azizabadi**

This experiment was conducted to study the effects of various plant essential oils on in vitro rumen acid load of sheep in a completely randomized design. The experimental treatments were basal diet (40% forage and 60% concentrate, control), basal diet plus thyme leaf essential oil, cumin seed essential oil, fennel seed essential oil and peppermint essential oil. Each essential oil was used as 1 milliliter per 100 milliliters of the medium. The experimental treatments were incubated for 24 hours with 30 milliliters of buffered rumen fluid under anaerobic condition with a temperature of 38.6°C (4 replications per each treatment). The rumen fluid was collected before morning feeding from three fistulated male sheep (body weight: 45±2kg). After the incubation period, pH of the medium was immediately measured. Then, the medium was filtered through a 42 µm filter, and dry matter of unfiltered medium was determined. The acid load was determined by adding calcium carbonate to the medium and calcium solubility was then measured. In comparison with the other oils, thyme leaf essential oil caused a significant increase in the pH level of the medium ( $p < 0.05$ ). Using essential oils led to a significant decrease in acid load of rumen fluid ( $p < 0.05$ ). Use of thyme leaf essential oil in the medium caused a significant reduction in disappearance of dry matter in the basal diet.

Key words: acid load; essential oil; thyme leaf; cumin seed; fennel seed and peppermint



منابع

- 1- Bodas, R., S. Lopez, M. Fernandez, R. Garcia-Gonzalez Rodriguez, R. J. Wallace, and J. S. Gonz'alez. 2008. In vitro screening of the potential of numerous plant species antimethanogenic feed additives for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:245–258.
- 2- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, and C. Kamel. 2006. Plant Extracts Affect In Vitro Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 89:761–771.
- 3- Calsamiglia, S., M. Busquet, P. W. Cardozo, L. Castillejos, and A. Ferret. 2007. Invited Review: Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 90:2580–2595.
- 4- Cowan, M. M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564–582.
- 5- Durmic, Z., C. S. McSweeney, G. W. Kemp, P. Hutton, R. J. Wallace, and P. E. Vercoe. 2008. Australian plants with potential to inhibit bacteria and processes involved in ruminal biohydrogenation of fatty acids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:271–284.
- 6- Garcia-Gonzalez, R., Lopez, S., Fernandez, M., and J.S. Gonzalez. 2008. Dose–response effects of Rheum officinale root and Frangula alnus bark on ruminal methane production in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:319–334
- 7- Macheboeuf, D., D. P. Morgavi, Y. Papon, J. L. Mousset and M. Arturo-Schaan, 2008. Dose–response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:335–350.
- 8- Newbold C.J., F. M. McIntosh, P. Williams, Riccardo Losa, and R. J. Wallace. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114:105–112.9- Snyder, O. P. 1997. Antimicrobial effects of spices and herbs. Hospitality Institute of Technology and Management; St. Paul, Minnesota
- 10- Spanghero, M., C. Zanfia, E. Fabbro, N. Scicutella, and C. Camellini. 2008. Effects of a blend of essential oils on some end products of in vitro rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145: 364–374.
- 11- Wadhwa, D., L. P. Borgida, M. S. Dhanoa and R. J. Dewhurst. 2001. Rumen Acid Production from Dairy Feeds. 2. Effects of diets based on corn silage on feed Intake and Milk Yield. *J. Dairy Sci.* 84:2730–2737.

جدول ۱. تأثیر اسانس ها بر pH محیط کشت، ناپدید شدن ماده خشک و بار اسیدی جیره آزمایشی

سطح احتمال معنی دار شدن	خطای استاندارد	تیمارهای آزمایشی				شاهد	
		آویشن	نعناع فلفلی	زیره سبز	رازیانه		
۰/۰۵	۰/۰۶۱	۶/۰۶*	۵/۰۵	۴/۹۱	۴/۸۹	۴/۹۴	pH
۰/۰۵	۰/۰۲۱	۰/۳۴*	۰/۵۰	۰/۴۹	۰/۵۵	۰/۵۶	ناپدید شدن ماده خشک (گرم بر کیلوگرم)
۰/۰۵	۰/۴۶	۲/۸۲*	۱۰/۸۸*	۱۰/۴۹*	۱۸/۹۶*	۲۱/۳۹	بار اسیدی (میلی گرم کلسیم به ازای هر گرم ماده خشک)

\* تیمارهایی که دارای علامت ستاره هستند دارای اختلاف معنی دار با شاهد هستند (p<۰/۰۵).