



تأثیر اسانس نعناع فلفلی و کربوهیدراتهای غیر الیافی بر فرستنجه های تولید گاز شولوخه در شرایط بروون تنی (*in vitro*)

الهام جانی، محسن دانش مسکران، علیرضا وکیلی

دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر و اعضای هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر استفاده از منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر الیافی و اسانس نعناع فلفلی بر فرستنجه های تولید گاز پوسته تخم پنبه (شولوخه) میباشد. تیمارهای آزمایشی شامل شولوخه، شولوخه همراه با منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر الیافی (ساکاروز و نشاسته) در مقادیر ۰/۰، ۶۰ و ۹۰ میلی گرم به ازای گرم ماده خشک و اسانس نعناع فلفلی (۰/۰، ۴۰ و ۸۰ میکرولیتر در گرم ماده خشک) بود. روش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی برای تعیین فرستنجه های تولید گاز مورد استفاده قرار گرفت. فرستنجه های تولید گاز نمونه های مکمل شده در مقایسه با شولوخه به عنوان تیمار شاهد با استفاده از تست دانت (P<۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفتند. مکمل سازی شولوخه با کربوهیدراتهای غیر الیافی منجر به افزایش معنی دار فرستنجه تولید گاز از بخش قابل تخمیر (b) شد، اما اسانس نعناع آن را کاهش داد (P<۰/۰۵). همچنین اسانس نعناع در نمونه های شولوخه مکمل شده با نشاسته و ساکاروز، باعث کاهش معنی دار b گشت (P<۰/۰۵). در رابطه با ثابت نرخ تولید گاز (c)، کربوهیدراتهای غیر الیافی مورد استفاده اثیر معنی دار بودند. بالعکس، افزودن اسانس نعناع به شولوخه و نیز شولوخه مکمل شده با نشاسته و ساکاروز باعث افزایش معنی دار c گشت (P<۰/۰۵).

واژه های کلیدی: اسانس، کربوهیدراتهای غیر الیافی، تولید گاز.

مقدمه

کربوهیدراتهای غیر الیافی یکی از منابع مهم انرژی برای میکروارگانیسمهای شکمبه و نشخوارکنندگان هستند، با این حال اثرات متفاوتی نیز بر عملکرد حیوان دارند^(۳). یونوفراها به منظور بهبود تخمیر شکمبه به جیره های نشخوارکنندگان افزوده می شوند. اما، با درنظر گرفتن سلامت بشر، عصاره های گیاهی و اسانسها به عنوان افزودنیهای خوراکی طبیعی جایگزین یونوفراها شدنند^(۷). اولین تحقیقات در رابطه با اثر اسانس ها به عنوان تعدیلکنندگان تخمیر شکمبه به دهه های قبل بر میگردد^(۱۳). با این وجود، تنها تعداد محدودی پژوهش به بررسی اثر اسانسها بر تخمیر شکمبه پرداخته اند^(۱۰، ۵).

مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خوراک و در نتیجه ارزش انرژی زایی آن می باشد^(۱۲). روش بروون تنی تولید گاز در طی دهه های اخیر به طور وسیعی توسط متخصصین تغذیه نشخوارکنندگان جهت بررسی ارزش تغذیه ای مواد خوراکی مورد استفاده قرار گرفته است^(۱۴). مزیت این روش به لحاظ هزینه و سهولت اندازه گیری نیز مورد توجه است^(۸).

هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر استفاده از منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر الیافی (ساکاروز و نشاسته) و اسانس نعناع فلفلی بر فرآیند تخمیر و تولید گاز پوسته الیاف دار تخم پنبه (شولوخه) در شرایط بروون حیوانی است.

مواد و روش ها

نمونه های شولوخه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد خشک و سپس با آسیاب با قطر منافذ ۲ میلی متر آسیاب شدند. اسانس نعناع فلفلی از طریق جوشاندن ساقه و برگهای گیاه مذکور در ۱۰۰ درجه سانتی گراد و جمع آوری بخار حاصله تهیه شد. تیمارهای آزمایشی شامل شولوخه (بدون افزودنی)، شولوخه همراه با منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر الیافی (ساکاروز و نشاسته) در مقادیر ۰/۰، ۶۰ و ۹۰ میلی گرم در گرم ماده خشک و اسانس نعناع فلفلی (۰/۰، ۴۰ و ۸۰ میکرولیتر در گرم ماده خشک) بود. تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی مطابق با روش ارائه شده توسط منک و استینگاس^(۱۲) انجام گرفت. جهت اندازه گیری تخمیر از سرنگ های شبیه ای مدرج مخصوص با حجم ۱۰۰ میلی لیتر استفاده گردید. روز قبل از آزمایش ۳۰۰ میلی



گرم از ماده‌ی خشک نمونه مورد آزمایش داخل هر سرنگ ریخته شد. سپس کربوهیدراتهای غیر الیافی بر اساس نوع و مقدار مورد نظر به داخل سرنگ حاوی خوراک پایه اضافه شدند. در تیمارهای آزمایشی حاوی اسانس، در روز انجام آزمایش، اسانس مربوطه در مقدار مورد نظر بوسیله سمپلر به نمونه خوراک داخل سرنگ اضافه شد. برای هر تیمار ۵ تکرار (سرنگ) در نظر گرفته شد. مایع شکمبه از دو رأس گوسفند نر بلوچی ($49/5 \pm 2/5$ کیلوگرم وزن زنده) که دارای فیستولای شکمبه‌ای بودند قبل از شده. مایع شکمبه جمع آوری شده فوراً بوسیله پارچه متقابل چهار لایه صاف گردید و به نسبت ۱:۲ با بافر ماده‌ی خشک تغذیه شدند. مایع شکمبه جمع آوری شده فوراً بوسیله پارچه متقابل چهار لایه صاف گردید و به نسبت ۱:۲ با بافر مخلوط شد. سپس به هر سرنگ ۴۰ میلی لیتر از این مخلوط افزوده شد. سرنگ‌ها در حمام آب گرم ($5/38$ درجه سانتی گراد) کشت داده شدند. میزان گاز تولید شده در زمان‌های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از کشت ثبت شد. در هر سری انجام آزمایش ۵ سرنگ به عنوان بلانک وجود داشت که حجم گاز تولیدی در آنها برای تصحیح داده‌ها استفاده شد. به منظور تعیین پارامترهای تولید گاز، داده‌های تولید گاز در معادله $P = b(1 - e^{-ct})$ قرار داده شدند. در این معادله b گاز تولید شده از بخش قابل تخمیر، c ثابت نرخ تولید گاز در زمان (ساعت)، t مدت زمان انکوباسیون و P میزان گاز تولیدی در زمان مورد نظر است. در این مطالعه تمامی داده‌ها با استفاده از نرمافزار آماری SAS (۱۵) آنالیز شدند و پارامترهای تولید گاز نمونه‌های مکمل شده با کربوهیدراتهای غیر الیافی و اسانس نعناع فلفلی در مقایسه با شولوخه به عنوان تیمار شاهد با استفاده از تست دانت ($p < 0.05$) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

اثر منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر الیافی و اسانس نعناع فلفلی بر فراسنجه‌های تولید گاز شولوخه در جدول ۱ نشان داده شده است. نشاسته در کلیه‌مقادیر مورد استفاده و ساکاروز به مقدار ۹۰ میلی گرم در گرم ماده خشک منجر به افزایش معنی دار تولید گاز از بخش قابل تخمیر با نمونه شاهد شولوخه گشتند. اما، اثر معنی داری بر نرخ تولید گاز نداشتند ($p > 0.05$). مقدار گاز تولید شده تابع مقدار سوبسترات تخمیر شده و نسبت مولی اسیدهای چرب فرار تولید شده می‌باشد (۶). نتایج این آزمایش مشاهدات لی و همکاران (۱۱) را تأیید می‌کند که گزارش نمودند، غلظت کل اسیدهای چرب فرار از $133/3$ به $143/1$ میلی مول بر لیتر بطور خطی افزایش یافت، هنگامیکه غلظت ساکاروز تزریق شده به شکمبه بطور خطی افزایش پیدا کرد. هال و ویمر (۹) نیز گزارش کردند که غلظت کل اسیدهای چرب فرار و والرات با افزایش مقدار ساکاروز در ۴۸ ساعت افزایش یافت. آنها همچنین گزارش کردند که افزایش غلظت ساکاروز تأثیری بر نرخ تخمیر نداشت، اما فاز تأخیر را بصورت خطی افزایش داد (۹). چارملی و همکاران (۴) نیز گزارش نمودند که غلظت کل اسیدهای چرب فرار از $84/9$ به $90/6$ میلی مول افزایش یافت، هنگامیکه ساکاروز بمقدار ۱۰ درصد به سیلان یونجه افزوده شد.

افزودن اسانس نعناع در هر دو سطح مورد استفاده به شولوخه و نیز شولوخه مکمل شده با نشاسته و ساکاروز منجر به کاهش معنی دار مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر و افزایش نرخ تولید گاز در مقایسه با نمونه شاهد شولوخه گشت ($p < 0.05$). نتایج این آزمایش مشاهدات آگاروال و همکاران (۱) را تأیید می‌کند که گزارش نمودند، غلظت کل اسیدهای چرب فرار ($1/01$) کاهش یافت، هنگامیکه اسانس نعنا به مقدار ۱ و 2 میکرولیتر در هر میلی لیتر از محلول کشت شده به کاهگدم افزوده شد. اما گنزالر و همکاران (۷) گزارش کردند که بکارگیری نعناع تغییر معنی داری در الگوی تخمیر شکمبه ایجاد نکرد. هریستو و همکاران (۱۰) نیز گزارش کردند که اسانس نعناع اثر معنی داری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار، استات، بوتیرات و پروپیونات در کشت کوتاه‌مدت نداشت و تنها منجر به کاهش جزئی دی‌آمیناسیون گردید (۵-۱۲ درصد). آندو و همکاران (۲) نیز در آزمایشی درون‌تنی گزارش کردند که افزودن اسانس نعناع بمقدار 200 گرم در روز به جیره باعث کاهش تولید آمونیاک و پروپیونات گشت اما بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار و تجزیه‌ی ماده‌ی خشک اثری نداشت. تاتسوکا و همکاران (۱۶) نیز گزارش کردند که ترکیبات آلفا و بتا سیکلو دکسترین موجود در اسانس نعناع اثر معنی داری بر pH شکمبه، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نسبت مولی



این اسیدها ندارد. تفاوتهای موجود بین مطالعات ممکن است به عواملی از قبیل غلظت اسانس مورد ارزیابی و یا نوع تکنیک بروونتنی بکار گرفته شده مربوط باشد.

نتایج این پژوهش نشان داد که اسانس نعناع باعث کاهش مقدار تولید گاز شد و از آنجاییکه مقدار گاز تولید شده از یک خوراک شاخصی از قابلیت تخمیر آن خوراک و در نتیجه ارزش انرژی‌زایی آن می‌باشد (۱۲)، لذا ممکن است چنین استنباط شود که اسانس مذکور منجر به کاهش تخمیر منبع علوفه‌ای مورد ارزیابی می‌گردد.

In vitro effect of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil and non-fiber carbohydrates on gas production parameters of cottonseed hulls

E. Jani¹, M. Danesh Mesgaran², A. R. Vakili²

Islamic azad university of kashmar, Iran¹;Department of Animal Science (Excellence Center for Animal Science), Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran².

The aim of the present study was to evaluate the effect of various non-fiber carbohydrates (NFC) and peppermint essential oil (PE) on in vitro gas production parameters of cottonseed hulls (CH). Treatments were CH, CH plus NFC [sucrose (SUC) and starch (STA), each in 3 levels (0.0, 60 and 90 mg/g DM)] and PE (0.0, 40 and 80 µl/g DM). The in vitro gas production technique was used to determine gas production parameters of the samples. The gas production parameters of the supplemented samples were compared with CH as control using dunnet's test at $p<0.05$. Supplementation of CH with NFC (STA at 3 levels, SUC as 90 mg/g DM) caused to increase the volume of gas produced (b), but PE caused to reduce b . In addition, PE reduced significantly b parameter of CH samples supplemented with SUC and STA. There was no significant effect of NFC on the fractional rate constant of gas produced (c) from CH. However, c was significantly increased when PE was added to CH and CH samples supplemented with both SUC and STA.

Key Words: Essential Oil, NFC, Gas Production

منابع

1. Agarwal, N., C. Shekhar, R. Kumar, L. C. Chaudhary, and D. N. Kamra. 2009. Effect of peppermint oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim. Feed Sci. Technol.* 148: 321-327.
2. Ando, S., T. Nishida, M. Ishida, K. Hosoda, and E. Bayaru. 2003. Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livest. Prod. Sci.* 82: 245-248.
3. Ariza, P., A. Bach, M. D. Stern, and M. B. Hall. 2001. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 79: 2713-2718.
4. Charmely, E. D., D. M. Veira, G. Butler, L. Aroeira, and H. C. V. Codagnone. 1991. The effect of frequency of feeding and supplementation with sucrose on ruminal fermentation of alfalfa silage given ad libitum or restricted to sheep. *Can. J. Anim. Sci.* 71: 725-737.
5. Chaves, A.V., Y. He, W. Z. Yang, A. N. Hristov, T. A. McAllister, and C. Benchaar. 2007. Effects of essential oils on proteolysis, deamination and methanogenesis in mixed cultures of ruminal bacteria. *Can. J. Anim. Sci.* (in review; CJAS07061).
6. Dixon, R. M., and S. Chanchai. 2000. Colonization and source of N substrates used by microorganisms digesting forages incubated in synthetic fiber bags in the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83: 261-272.
7. Garcia-Gonzalez, R., S. Lopez, M. Fernandez, R. Bodas, and J. S. Gonzalez. 2008. Screening the activity of plants and spices for decreasing ruminal methane production in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 147: 36-52.
8. Getachew, G., P. H. Robinson, E. J. DePeters, and S. J. Taylor. 2004. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and in vitro gas production of several ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 111: 57-71.
9. Hall, M. B., and P. J. Weimer. 2007. Sucrose concentration alters fermentation kinetics, products, and carbon fates during in vitro fermentation with mixed ruminal microbes. *J. Anim. Sci.* 85: 1467-1478.
10. Hristov, A. N., J. K. Ropp, S. Zaman, and A. Melgar. 2008. Effects of essential oils on in vitro ruminal fermentation and ammonia release. *Anim. Feed Sci. Technol.* 144: 55-64.
11. Lee, M. R. F., R. J. Merry, D. R. Davies, J. M. Moorby, M. O. Humphreys, M. K. Theodorou, J. C. MacRae, and N. D. Scollan. 2003. Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on in vitro rumen fermentation. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 104: 59-70.
12. Menke, K. H., and H. Steingass. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 28: 7-55.
13. Nagy, J. G., and R. P. Tengerdy. 1968. Antibacterial action of essential oils of Artemisia as an ecological factor. II. Antibacterial action of the volatile oils of Artemisia tridentata (Big Sagebrush) on bacteria from the rumen of mule deer. *Appl. Microbiol.* 16: 441-444.
14. Rymer, C., J. A. Huntington, B. A. Williams, and D. I. Givens. 2005. In vitro cumulative gas production techniques: History, methodological consideration and challenges. *J. Anim. Feed Sci. Technol.* 123-124: 9-30.



15. Statistical Analysis Systems (SAS) Institute, 2003. SAS User's Guide. SAS Institute, Cary, NC.
 16. Tatsuoka, N., K. Hara, K. Mikuni, K. Hara, H. Hashimoto, and H. Itabashi. 2008. Effects of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production *in vitro*. J. Anim. Sci. 79: 68-75.

جدول ۱- اثر منابع مختلف کربوهیدراتهای غیر یافی و اسانس نعناع فلفلی بر فرآستنجه های تولید گاز شولو خنہ

نوع و مقدار کربوهیدراتهای غیر یافی (میلی گرم در گرم ماده خشک)	اسانس نعناع فلفلی	توالید گاز از بخش قابل تخریب	ثابت نرخ تولید گاز
فاقد کربوهیدرات غیر یافی (شاهد)			
*۰۲۵/۰	*۵۸/۳۵	۴۰	
*۱۰۷/۰	*۳۷/۸	۸۰	
*۰۱۷/۰	*۶۵/۹۰	۰/۰	نشاسته *۰۶۰ میلی گرم در گرم ماده خشک
*۱۷/۰	*۱۲/۲۷	۴۰	
*۰۴/۰	*۶۲/۱۹	۸۰	
*۰۱۷/۰	*۲۶/۸۹	۰/۰	نشاسته *۰۹۰ میلی گرم در گرم ماده خشک
*۱۴/۰	*۴۱/۳۴	۴۰	
*۰۴/۰	*۳۸/۲۱	۸۰	
*۰۱۵/۰	۷۸/۷۲	۰/۰	ساکاروز *۶۰ میلی گرم در گرم ماده خشک
*۱۷/۰	*۹/۳۳	۴۰	
*۰۳/۰	*۴۷/۳۱	۸۰	
*۰۱۶/۰	*۸۴/۸۲	۰/۰	ساکاروز *۹۰ میلی گرم در گرم ماده خشک
*۱۸/۰	*۳۳/۳۹	۴۰	
*۰۴/۰	*۱۵/۲۳	۸۰	
*۰۰۵/۰	۹۰/۱		s.e.m
*۰۵/۰<	*۰/۰۵<		p value

* در هر ستون میانگین هایی که دارای علامت هستند با شاهد اختلاف معنی دار دارند ($p < 0.05$).