



## تأثیر اسانس برخی از چاشنیها و دانه گیاهان دارویی بر فراسنجه های تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی

مهسا سجادیان، محسن دانش مسگران، علیرضا وکیلی، حسین جهانی عزیز آبادی  
گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

تأثیر اسانس برخی از چاشنیها و دانه گیاهان دارویی (سیر، دارچین، فلفل سیاه، زیره سبز و رازیانه) یا مونتزنین (به عنوان کترول مثبت) بر فراسنجه های تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی (*In Vitro*) بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل: علف خشک یونجه (۳۰۰ میلی گرم ماده خشک، شاهد)، یونجه+روغن سیر، یونجه+اسانس دارچین، یونجه+اسانس دانه فلفل سیاه، یونجه+اسانس دانه زیره سبز، یونجه+اسانس دانه رازیانه و یونجه+مونتزنین بودند. روغن سیر و یا هر یک از اسانس های مورد بررسی به میزان ۲۰۰ میکرولیتر به ازای هر گرم ماده خشک یونجه اضافه شدند. مونتزنین به میزان ۵ میکرومول در محیط کشت استفاده شد. از تکنیک تولید گاز با سرنگ های شیشه ای استفاده شد. در هر سرنگ ۴۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده (به نسبت ۱:۲ مایع شکمبه:بافر) ریخته شد (۴ تکرار برای هر تیمار). سپس سرنگ ها در دمای ۳۸/۶ درجه سانتی گراد کشت داده شدند. گاز تولیدی پس از شروع انکوباسیون در زمان های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۳۶ ساعت قرائت و به منظور تعیین فراسنجه های تولید گاز از مدل نمایی استفاده شد. نتایج نشان داد استفاده از مونتزنین باعث افزایش و استفاده از روغن سیر، اسانس دانه زیره سبز، اسانس دانه رازیانه و اسانس دارچین باعث کاهش میزان گاز تولیدی در مقایسه با علف خشک یونجه شدند ( $P<0.05$ ). اما اسانس زیره سبز و دارچین باعث کاهش معنی دار ثابت نرخ تولید گاز نسبت به علف خشک یونجه شدند ( $P<0.05$ ).

واژه های کلیدی: اسانس دارچین، روغن سیر، تولید گاز، یونجه خشک.

مقدمه

فعالیت میکرووارگانیسم های شکمبه همراه با هدررفت پروتئین (به شکل آمونیاک) و انرژی (از طریق تولید گاز متان) است (۹). متخصصین تغذیه برای حل این مشکل راهکارهای مختلفی از جمله تنظیم مناسب جیره های غذایی و استفاده از افزودنی های خوراکی همچون آنتی بیوتیک های محرک رشد مانند مونتزنین و لازالوسید را پیشنهاد کردند. استفاده از آنتی بیوتیک ها اگرچه سبب کاهش هدررفت گاز متان و آمونیاک می شود (۶) ولی ظهور بقایای آن ها در تولیدات دامی و خطراتی که برای مصرف کنندگان دارد سبب شد تا استفاده از آنتی بیوتیک های محرک رشد از سال ۲۰۰۶ به بعد در بسیاری از کشورها توسعه یافته منمنع شود (۳). برای حل این مشکل متخصصین تغذیه استفاده از مواد جایگزین مانند عصاره و اسانس گیاهان را پیشنهاد کردند (۱۰). اسانس ها ترکیباتی فرار هستند که از برخی گیاهان طی فرایند تقطیر با بخار جدا می شوند و به عنوان متابولیت ثانویه محسوب می شوند. این ترکیبات مسئول عطر و رنگ گیاهان هستند. اکثر این اسانس ها بی خطرند و به علت خاصیت ضد میکروبی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی به عنوان افزودنی های طبیعی در خوراک حیوانات استفاده می شوند (۱). نتایج برخی از پژوهش ها نشان داد که این مواد می توانند به طور مطلوبی تخمیر میکروبی شکمبه را تغییر دهند (۵). هدف این مطالعه بررسی اثر اسانس برخی از چاشنیها و دانه گیاهان دارویی بر فراسنجه های تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی (*In Vitro*) بود.

مواد و روشها

در این پژوهش از روغن سیر، اسانس دارچین و دانه های فلفل سیاه، زیره سبز و رازیانه همراه با مونتزنین (با غلظت ۵ میکرو مول در محیط کشت) به عنوان کترول مثبت استفاده شد. به منظور تعیین میزان گاز تولیدی از سرنگهای شیشه ای ۱۰۰ میلی لیتری و بر اساس روش منک و استیگناس (۱۹۸۶) عمل شد. تیمارهای آزمایشی شامل علف خشک یونجه (شاهد)، یونجه+مونتزنین، یونجه+روغن سیر، یونجه+اسانس دانه فلفل سیاه، یونجه+اسانس دانه زیره سبز، یونجه+اسانس دانه رازیانه و یونجه+اسانس



دارچین بودند. ابتدا یونجه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی گراد خشک شد و با آسیاب دارای الک با قطر ۲ میلی متر آسیاب شد. سپس ۳۰۰ میلی گرم یونجه داخل هر سرنگ ریخته شد و به هر سرنگ ۲۰۰ میکرولیتر به ازای هر گرم ماده خشک علف یونجه انکویت شده روغن سیر و یا اسانس گیاهان مورد استفاده در این مطالعه افزوده شد (۴ تکرار برای هر تیمار). مایع شکمبه قبل از خوارک صبحگاهی از دو رأس گوسفند نر بلوچی (به وزن  $2 \pm 45$  کیلو گرم) که دارای فیستولای شکمبه ای بودند گرفته شد. گوسفندان روزانه با ۱/۵ کیلوگرم یونجه خشک و  $4/0$  کیلوگرم کنسانتره (دارای ۱۷۰ گرم در کیلوگرم پروتئین خام) تغذیه می شدند. مایع شکمبه جمع آوری شده فورا با پارچه متقابل ۴ لایه صاف شد و به نسبت ۱:۲ با بافر مخلوط شد. سپس به هر سرنگ ۴۰ میلی لیتر مایع شکمبه بافری شده افزوده شد و سرنگ ها در حمام آب گرم ( $38/6$  درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. میزان گاز تولید شده در زمان های ۲، ۴، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از کشت ثبت شد. به منظور تعیین فراسنجه های تولید گاز از معادله  $P = b - e^{-ct}$  استفاده شد. در این معادله فراسنجه  $b$  گاز تولیدی از بخش تخمیر پذیر، ثابت نرخ تولید گاز در ساعت،  $c$  زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و  $P$  میزان گاز تولیدی در زمان مورد نظر می باشد. فراسنجه های تولید گاز تیمارهای آزمایشی با استفاده از روش دانت ( $0/0.5$ ) نسبت به علف خشک یونجه (شاهد) مقایسه شدند.

#### نتایج و بحث

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه های تولید گاز در جدول ۱ نشان داده است. نتایج این مطالعه نشان داد که مونتزرین باعث افزایش معنی دار ( $P < 0.05$ ) فراسنجه  $b$  شد. اثر اسانس فلفل سیاه بر فراسنجه  $b$  معنی دار نبود اما باعث افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) در فراسنجه  $c$  شد. اسانس زیره سبز باعث کاهش معنی دار ( $P < 0.05$ ) فراسنجه های  $b$  و  $c$  شد. اثر اسانس دارچین بر فراسنجه  $b$  معنی دار نبود اما فراسنجه  $c$  را به طور معنی داری کاهش داد. روغن سیر و اسانس رازیانه فراسنجه  $b$  را به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) کاهش دادن اما باعث افزایش معنی دار ( $P < 0.05$ ) فراسنجه  $c$  شدند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که برخلاف مونتزرین که فراسنجه های تولید گاز را افزایش داد اسانس های مورد استفاده باعث کاهش میزان تولید گاز علف خشک یونجه شدند (جدول ۱). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسانس دارچین و اسانس دانه زیره سبز روند تولید گاز را در ۹۶ ساعت در مقایسه با شاهد کاهش می دهند اما مونتزرین این روند را افزایش می دهد (شکل ۱ و ۲). نتایج مطالعه حاضر مشاهدات فراسر و همکاران (۲۰۰۷) را تایید می نماید که گزارش کردند استفاده از اسانس دارچین میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون را کاهش می دهد. همچنین ماقچبیوف و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که استفاده از اسانس دارچین در ۱۶ ساعت انکوباسیون میزان گاز تولیدی را کاهش می دهد. نتایج این مطالعه با مشاهدات بوسکویت و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد که گزارش کردند استفاده از روغن سیر در ۱۷ ساعت انکوباسیون تولید گاز را کاهش می دهد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که اسانس های مختلف ممکن است تاثیر متفاوتی بر فراسنجه های تولید گاز منابع فیری داشته باشند. بنابراین به نظر می رسد که انجام آزمایشات بیشتر و همچنین در منابع خوارکی دیگر جهت بررسی و شناخت تاثیر اسانس های طبیعی ضروری باشد.



## The effect of various essential oils of medical plant seeds and spices on gas production parameters of alfalfa hay in In Vitro conditions

M.Sadjadian, M. Danesh Mesgaran, A. Vakili and H. Jahani- Azizabadi. (ferdowsi university of mashad)

The effect of various essential oils (EO) of medical plantseeds and spices (garlic, cinnamon, black pepper, cumin and fennel) and monensin (possitivecontrol) was evaluated using gas production parameters of alfalfa hay(AH) under in vitro conditions. Treatment were AH (300mg/DM, control), AH+ garlic oil, AH+ EO of cinnamon, AH+ EO of black pepper seed, AH+ EO of cumin seed, AH+ EO of fennel seed and AH+ monensin. Garlic oil or EO was added at 200  $\mu$ l/g DM. monensin was used as 5  $\mu$ mol in medium. In each syringe were placed 40 ml of buffered rumen fluid (ratio of buffer to rumen fluid was 2:1) (four replicated for each treatment). Then, the syringes were incubated at the 38.6°C, and the volume of gas produced was recorded at 2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72 and 96 hour after the incubation. Results of this study showed that monensin caused on an increase in gas production compared to the control while garlic oil, EO of cumin seed and EO of fennel seed decreased gas production in comparison to control ( $P < 0.05$ ). But, EO of cumin seed and EO of cinnamon decreased significantly fractional rate constant compared with control ( $P < 0.05$ ).

Keyword: essential oils of cinnamon, garlic oil, gas production, alfalfa hay

### منابع

- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbial. Rev.* 12:564–582.
- Busquet, M., S. Calsamiglia, A. Ferret, M. D. Carro, and C. Kamel. 2005. Effect of Garlic Oil and Four of its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.* 88:4393–4404.
- European Commission. 2003. Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. *Off. J. Eur. Union L:L268/29–L268/43.*
- Fraser, G. R., A.V. chaves, Y. Wang, T. A. McAllister, K. A. Beauchemin, and C. Benchaar. 2007. Assessment of the Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems. *J. Dairy Sci.* 90:2315–2328.
- Greathead, H. 2003. Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.* 62: 279–290.
- McGuffey, R. K., L. F. Richardson, and J, I, D. Wilkinson. 2001. Ionopher for dairy cattle: cuurent status and future outlook. *J. Dairy Sci.* 84: 194-203.
- 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 rumenmicrobial population. *J. Anim. Feed Sci.* 145:335–350.
- Menke, K.H. and Steingass, H. 1986. Animal Research Development. 28:7-55.
- Schelling,1984. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation.J. Dairy Sci. 88:4393-4404.
- Wallace, R. J., N. R. McEwan, F. M. McIntosh, B. Teferedegne, and C.J. Newbold. 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *J. Anim. Feed Sci.* 15:1458–1468.



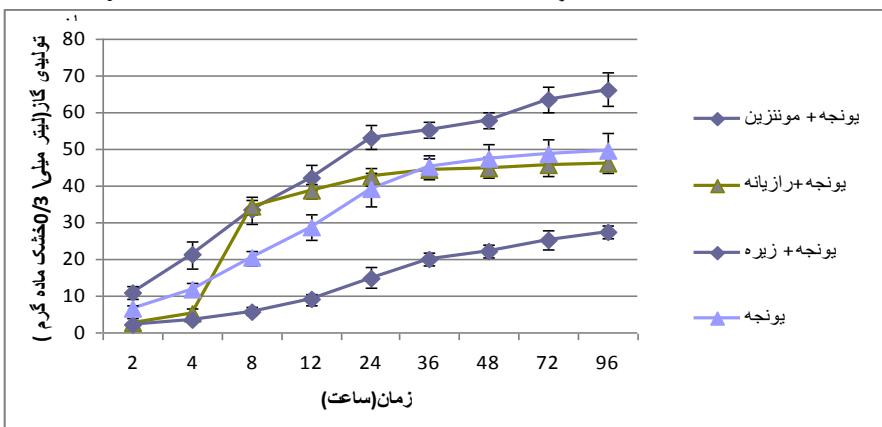
جدول ۱ \_ اثر اسانس‌ها بر استفاده شده بار امترهای تولید گاز (میانگین ± خطای استاندارد)

تولید گاز	پارامترهای	تیمار
نسبت به ساعت (c)	(میلی لیتر به ازای ۰/۳ گرم ماده خشک) (b)	
۰/۰۷±۰/۰۰۶	۴۹/۳±۱/۳	یونجه
۰/۱±۰/۰۰۷*	۶۰/۱±۱/۳*	یونجه + موننزین
۰/۱۳±۰/۰۰۵*	۴۸/۵±۰/۵	یونجه + اسانس دانه فلفل سیاه
۰/۰۳۱±۰/۰۰۲*	۲۸/۷±۰/۱*	یونجه + اسانس دانه زیره سبز
۰/۰۴±۰/۰۰۲*	۴۹/۱۱±۱/۳	یونجه + اسانس دارچین
۰/۱±۰/۰۰۱*	۴۴/۷±۱/۳*	یونجه + روغن سیر
۰/۱۷±۰/۰۰۷*	۴۴/۸±۰/۵*	یونجه + اسانس دانه رازیانه

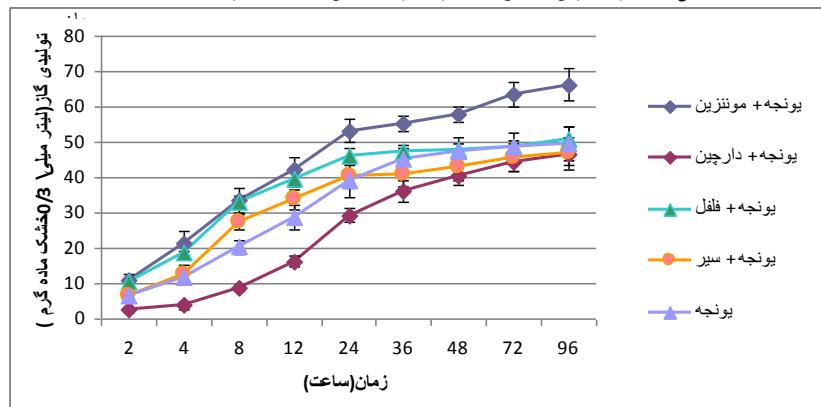
b: گاز تولیدی

قابل تخمیر؛ c: ثابت نرخ تولید گاز

\*: در هر دو گروه میانگین تیمارهای باعلافت\* دارای اختلاف معنیداری بین تیمار شاهد (یونجه) هستند ( $P < 0/05$ ).



شکل ۱ \_ تاثیر موننزین، اسانس دانه زیره سبز و اسانس دانه رازیانه بر روند تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)



شکل ۲ \_ تاثیر موننزین، روغن سیر، اسانس دارچین و اسانس دانه فلفل سیاه بر روند تولید گاز علف خشک یونجه در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)