Archive of SID

تحقیقات تولیدات دامی

سال نهم/شماره سوم/پاییز ۱۳۹۹ (۹۷-۸۵)

Animal Production Research

دانشگاه گیلان

مقاله پژوهشی

اثر سطوح مختلف اسانس دارچین بر ترکیبات شیمیایی، فراسنجه‌های تولید گاز و پایداری هوازی سیلاژ یونجه در شرایط آزمایشگاهی

مقصود بشارتی[1*]، معصومه نیازی‌فر[2]، ذبیح‌اله نعمتی[1]

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۰۳)

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی اثر سطوح مختلف اسانس دارچین (صفر، ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم اسانس به ازای هر کیلوگرم ماده تر) بر ترکیبات شیمیایی، پایداری هوازی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ یونجه در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل تیمار یونجه بدون افزودنی (شاهد)، یونجه همراه با اسانس دارچین با سطح ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و یونجه به علاوه اسانس دارچین با سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند. سیلوهای تهیه شده به مدت ۶۰ روز در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از باز نمودن سیلوها، ترکیبات شیمیایی تیمارهای مورد آزمایش و همچنین پایداری هوازی سیلاژها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری قابلیت تولید گاز با استفاده از روش درون آزمایشگاهی با پنج تکرار در ساعت‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ انجام گرفت. داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند. نتایج نشان داد که افزودن اسانس در هر دو سطح به سیلاژ یونجه، میزان pH سیلاژ را به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد کاهش داد ($P<۰/۰۵$). همچنین افزودن اسانس دارچین در سطح ۶۰ میلی‌گرم به سیلاژ یونجه غلظت کربوهیدرات‌های محلول در آب (۴/۸۰ درصد) را نسبت به شاهد (۴/۰۸ درصد) افزایش داد ($P<۰/۰۵$). میزان پروتئین خام در تیمارهای مکمل شده با اسانس دارچین افزایش (۱۲/۴۷ درصد) یافت. میزان پایداری هوازی در تیمارهای فرآوری شده با اسانس دارچین نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. افزودن ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس دارچین موجب کاهش حجم گاز تولیدی (۱۲۸/۷ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک) در مقایسه با تیمار شاهد (۱۳۶/۵۲ میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک) شد ($P<۰/۰۵$). در مجموع، داده‌های بدست آمده نشان‌دهنده اثر مثبت اسانس دارچین بر کیفیت سیلاژ یونجه و خصوصیات تخمیری آن بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس دارچین، پایداری هوازی، تولید گاز آزمایشگاهی، سیلاژ یونجه

* نویسندهٔ مسئول: m_besharati@hotmail.com

doi: 10.22124/ar.2020.14695.1456

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

افزودنی‌های سیلاژ سبب بهبود تخمیر شده و تخمیر نامطلوب را محدود می‌کنند و یا کیفیت تغذیه‌ای سیلاژ را بهبود می‌بخشند. افزودنی‌های سیلو طی سال‌ها به منظور کاهش خطرات فرآیندهای مخرب در فرایند سیلو کردن و هم‌چنین بهبود ارزش تغذیه‌ای سیلاژ توسعه یافته‌اند. اساس تخمیر در سیلو دست‌یابی به میزان کافی اسید لاکتیک به منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب موجود در توده گیاهی و هم چنین ممانعت از فعالیت آنزیم‌های کاتابولیکی درون گیاهی است، که در نتیجه منجر به بیشینه حفظ مواد مغذی در سیلاژ می‌شود (کریمی و همکاران، ۱۳۹۶؛ Bolsen *et al.*, 1996; Besharati *et al.*, 2017).

تحقیقات نسبتاً زیادی در رابطه با استفاده از افزودنی‌های سیلاژ انجام شده است، ولی به واسطه طبیعت دینامیکی تخمیر سیلاژ، نتایج متغیر بوده‌اند. خصوصیات واقعی شیمیایی و فیزیکی ماده گیاهی در جمع‌آوری محصول نتیجه استفاده از افزودنی‌های سیلاژ را تعیین می‌کند. برای این که یک افزودنی ارزشمند شود باید سبب کاهش اتلاف ماده خشک در طول تخمیر و نگهداری شود. ارزش تغذیه‌ای بالای سیلاژ، تولید دام را بهبود بخشیده یا ماندگاری سیلاژ را در حالت ذخیره و در آخور خوراک زیادتر می‌کند. افزودنی‌ها باید به دقت ارزیابی شده و تولیدکنندگان، آثار مثبت آن‌ها بر حیوان را با دقت مرور نمایند (خورشیدی، ۱۳۸۴). روغن‌های اسانسی می‌توانند به عنوان افزودنی خوراکی، به منظور بهبود بازده خوراک و کنترل عوامل بیماری‌زا در دام استفاده شوند. اسانس‌های-گیاهی ترکیبات آروماتیک فراری هستند که از متابولیت-های ثانویه گیاهان شامل چندین دسته روغن‌های اسانسی، ارگانوسولفورها، پلی‌فلن‌ها و ساپونین بدست می-آیند (Gerbshenzon *et al.*, 1991).

اسانس‌ها از لحاظ ساختار، ویژگی و عملکرد بسیار متنوع هستند. ترپنوئیدها و فنیل پروپانوئید دو گروه از مهمترین ترکیبات شیمیایی فعال موجود در اسانس‌های گیاهی محسوب می‌شوند. اسانس‌ها در بخش‌های مختلف گیاه شامل ریشه، پوست، گل، گلبرگ، برگ، گوشت، میوه و ساقه وجود دارند. ترکیب آن‌ها در بخش‌های متفاوت گیاه تفاوت داشته و میزان آن به مرحله رشد گیاه و سلامت آن‌ها، عوامل محیطی مانند نور، تنش، دما و رطوبت بستگی دارد (Castillejos *et al.*, 2007; Besharati *et al.*, 2020).

خصوصیات ضد میکروبی اسانس‌ها علیه طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها شامل: باکتری‌ها، پروتوزوآ و قارچ‌ها به اثبات رسیده است (Giordani *et al.*, 2004). اسانس‌های گیاهی ممکن است در تغذیه نشخوارکنندگان کاربرد داشته باشند، زیرا تخمیر در سیلاژ و شکمبه بستگی به فعالیت میکروبی دارد که می‌تواند به وسیله اسانس‌ها تحت تأثیر قرار گیرد (Calsamiglia *et al.*, 2006). تحقیقات انجام شده نشان‌دهنده آثار اسانس‌های گیاهی بر فرآیندهای مختلف در شکمبه است. اخیراً آثار مثبت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی موجب شده است که محققین در صدد بررسی پتانسیل این مواد برای کنترل و بهبود تخمیر در شکمبه به عنوان راهکاری برای افزایش بازدهی مصرف خوراک باشند (Cardozo *et al.*, 2004; Falcone *et al.*, 2005).

یکی از گیاهانی که اخیراً در مطالعات درون‌تنی و برون-تنی مورد توجه قرار گرفته است، دارچین است. دارچین، قطعات خشک شده و نیز کوبیده پوست درختانی از جنس *cinnamomum* از تیره برگ‌بو است. گونه اصیل دارچین با نام علمی *Cinnamomum zeylanicum* است. دارچین گیاهی است که عصاره ساقه، سر شاخه‌های جوان و برگ‌های آن کاربرد درمانی دارند. این گیاه دارای موسیلاژ، تانن، قند، رزین و اسانس است. اسانس دارچین مهم‌ترین قسمت آن بوده و به ویژه در پوست تنه گیاه یافت می‌شود. قسمت اعظم این اسانس را سینامالدهید تشکیل می‌دهد که بیش‌ترین اثر ضد باکتریایی مربوط به آن است (Lourrenco *et al.*, 2008). هر چند روغن دارچین به خاطر خصوصیات درمانی از جمله ویژگی‌های ضد انگلی شناخته شده، اما فعالیت ضد باکتریایی آن علیه طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مشاهده شده است. این پژوهش به منظور بررسی اثر اسانس دارچین (۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم اسانس به ازای هر کیلوگرم) بر ترکیبات شیمیایی، پایداری هوازی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ یونجه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

تهیه اسانس دارچین: تهیه اسانس به روش تقطیر با آب (Hydrodistillation) انجام گرفت (شریعت، ۱۳۷۶). برای این کار، مقدار ۲۰۰ گرم از پودر دارچین به داخل بالن ژوژه به همراه ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. فرآیند تقطیر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیری کلونجر به مدت چهار ساعت انجام شد.

تهیه سیلاژ: علوفه یونجه چین چهارم قبل از گلدهی به‌مدت ۲۴ ساعت رطوبت‌زدایی و با دستگاه خردکن به اندازه‌های ۵-۳ سانتی‌متر خرد شد. تیمارها شامل یونجه بدون افزودنی (شاهد)، یونجه + افزودنی اسانس دارچین (۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن تر) و یونجه + افزودنی اسانس دارچین (۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن تر). برای هر تیمار، سه تکرار در نظر گرفته شد. اسانس دارچین پس از حل شدن در اتانول با سطح ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن روی علوفه اسپری شد و درون سیلوهای آزمایشگاهی با گنجایش وزنی ۲/۵ کیلوگرم، ارتفاع ۹۰ سانتی‌متر و به قطر ۱۰ سانتی‌متر که دارای شیر جهت خروج شیرابه‌های سیلویی در پایین هر سیلو بودند، به صورت دستی فشرده شدند و به مدت ۶۰ روز در دمای اتاق سیلو شدند.

تعیین مولفه‌های شیمیایی: پس از ۶۰ روز، سیلوها باز شدند و بلافاصله pH، ماده خشک (DM) و کربوهیدرات - محلول (WSC) نمونه‌های سیلاژها و یونجه قبل از سیلو کردن اندازه‌گیری شد و باقی‌مانده نمونه‌ها برای اندازه-گیری پروتئین خام (CP)، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF)، خاکستر خام (Ash) در دمای ۶۵ درجه سلسیوس برای ۷۲ ساعت خشک شدند. برای اندازه‌گیری خاکستر خام، نمونه‌ها با استفاده از آسیاب دارای توری یک میلیمتری آسیاب شدند. نمونه‌های آسیاب به مدت ۵ ساعت شده در دمای ۵۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند (AOAC, 2002). الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی طبق روش Van Soast *et al.* (1991) اندازه‌گیری شدند. پروتئین خام به وسیله میکروکلدال تعیین شد (AOAC, 2002).

جهت استخراج عصاره سیلاژ، مقدار ۲۰ گرم نمونه در داخل یک مخلوط‌کن ریخته و به میزان ۱۸۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه شد. مخلوط ایجاد شده از دو لایه صافی عبور داده شد. عصاره صاف شده برای تعیین اسیدهای-چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی مورد استفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول در آب از روش فنل سولفوریک استفاده شد (Dubios *et al.*, 1956). به منظور اندازه‌گیری اسیدهای چرب فرار کل در سیلو از روش تقطیر شرح داده شده به وسیله Markham (1942) استفاده شد (Besharati and Taghizadeh, 2009). جهت تعیین اسیدهای چرب، مقدار یک میلی‌لیتر اسید متافسفریک ۲۵ درصد (حجم/ وزن) به ۵ میلی‌لیتر عصاره صاف شده فرار اضافه شد.

اندازه‌گیری فراسنجه‌های تولید گاز: به منظور اندازه‌گیری تولید گاز از روش Ferdorak and Hrudy (1983) استفاده شد. ابتدا مواد خوراکی (همه تیمارهای آزمایشی) به وسیله آسیاب با قطر منافذ یک میلی‌متری به صورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از هر تیمار آزمایشی آسیاب شده، با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. برای هر نمونه ماده غذایی، پنج تکرار در نظر گرفته شد. دو ساعت بعد از وعده خوراک صبح‌گاهی، مایع شکمبه از سه راس گوسفند فیستولا شده تهیه و پس از صاف نمودن با پارچه توری چهار لایه در داخل فلاسک در دمای ۳۹ درجه سلسیوس به سرعت به آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تهیه شده به روش McDugall (1984) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد.

در هر شیشه حاوی ۳۰۰ میلی‌گرم از هر تیمار آزمایشی، مقدار ۲۰ میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شده و بعد از بی‌هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی اکسید کربن، درب شیشه‌ها با درپوش لاستیکی و درپوش فلزی به طور محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه، تعداد پنج عدد شیشه بدون ماده غذایی (بلانک) و دارای مایع شکمبه در نظر گرفته شدند. برای اندازه‌گیری گاز تولیدی، کل شیشه‌ها به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سلسیوس، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی به روش فدوراک (جابجایی آب) در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت (Fedorak and Hurdy, 1983). برای تعیین مؤلفه‌های تولید گاز از معادله $P=b(1-e^{-ct})$ برای تطبیق داده‌های تولید گاز

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شد، که در این معادله P تولید گاز در زمان t، b پتانسیل تولید گاز بخش محلول و غیرمحلول، c نرخ تولید گاز و t زمان تخمیر است. فراسنجه‌های تولید گاز با استفاده از رویه NLIN نرم افزار SAS برآورد شد.

برای تخمین قابلیت هضم ماده آلی از حجم گاز تولیدی بر اساس ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک در طول ۲۴ ساعت از رابطه زیر استفاده شد (Makkar, 2004):

OMD (%)= 14.88+0.899GP+0.45CP+0.0651ASH

OMD: قابلیت هضم ماده آلی (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی تصحیح شده برای ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر به ازای ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (بر حسب درصد)، ASH: خاکستر خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (DOMD) با استفاده از رابطه زیر برآورد شد (Makkar, 2004):

OMD (%)= OMD × %OM

DOMD: ماده آلی قابل هضم در ماده خشک (بر حسب درصد)، OMD: قابلیت هضم ماده آلی (بر حسب درصد)، OM: ماده آلی نمونه (بر حسب درصد).

برآورد انرژی قابل سوخت و ساز (ME) و انرژی خالص شیردهی (NE_L): این فراسنجه بر روابط زیر محاسبه شد (Makkar, 2004):

ME(MJ/Kg DM) = 2.20 + 0.136 GP + 0.057 CP

NE_L (MJ/kg DM) = 0.54 +0.096GP +0.0038CP +0.000173CF^2

ME: انرژی قابل سوخت و ساز (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، GP: حجم گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک)، CP: پروتئین خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک)، NE_L: انرژی خالص شیردهی (مگاژول در کیلوگرم ماده خشک)، CF: چربی خام (گرم بر کیلوگرم ماده خشک).

برآورد اسیدهای چرب زنجیر کوتاه (SCFA): این فراسنجه با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Gottschalk, 1986):

SCFA=0.00425+0.0222 GP

SCFA: اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، GP: حجم گاز تولیدی در ۲۴ ساعت (میلی‌لیتر بر ۲۰۰ میلی‌گرم ماده خشک).

پایداری هوازی: میزان پایداری هوازی با استفاده از روش Adesogan *et al.* (2002) محاسبه شد. در این روش، مقدار ۲۰۰ گرم از هر تکرار را درون ظروف یک‌بار مصرف بدون درب ریخته و یک دماسنج در مرکز هر توده سیلویی و دو دماسنج در دو نقطه مختلف اتاق قرار داده شد. زمانی که دمای توده سیلویی به دو درجه بالاتر از دمای محیط رسید، سیلاژ به صورت فاسد شده در نظرگرفته شد.

تجزیه آماری: تجزیه آماری داده‌های حاصل در قالب طرح کاملاً تصادفی با رویه GLM نرم افزار SAS (2002) انجام شد. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها (در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد) استفاده شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$

Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین کل، T_j = اثر تیمار، e_{ij} = خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

خصوصیات و ترکیبات شیمیایی یونجه قبل از سیلو کردن در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین نتایج مربوط به اثر اسانس‌های گیاهی بر ترکیب شیمیایی سیلاژ یونجه در جدول ۲ نشان داده شده است. داده‌های به‌دست آمده نشان دادند که با افزودن اسانس به سیلاژ یونجه میزان pH سیلو به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/05$). این کاهش pH به دلیل وجود باکتری‌های اسید لاکتیکی است که تولید اسید لاکتیک در سیلو را افزایش داده و منجر به کاهش تولید اسید استیک و بوتیریک می‌شوند (Rowghani *et al.*, 2008). نتایج این آزمایش نتایج Chavez *et al.* (2012) را تایید کرد که گزارش کردند افزودن اسانس‌های گیاهی پونه کوهی، دارچین و پرتقال در سطح ۳۷/۵، ۷۵ و ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو، مقدار pH سیلاژ جو را کاهش داد.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی یونجه قبل از سیلو کردن بر اساس صد درصد ماده خشک (میانگین±خطای معیار)

Table 1. Chemical compositions of alfalfa before ensiling based on 100% DM (Mean±SE)

Item	Chemical composition						
	ADF	NDF	WSC	ASH	CP	pH	DM
Alfalfa	17±1.40	24.8±1.058	3.74±0.087	11.6±0.028	19.6±0.427	6.14±0.011	22.2±0.975

DM: Dry matter; CP: Crude protein; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; WCS: Water soluble carbohydrate.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر افزودن اسانس دارچین بر خصوصیات شیمیایی سیلاژ یونجه پس از ۶۰ روز سیلو کردن (%DM)

Table 2. Effect of Cinnamon essential oil on chemical properties of alfalfa silage after 60 d of ensiling (%DM)

Treatments[1]	Chemical composition[2]										
	DM	NDF	ADF	WSC	TVFA	NH_3-N	CA	CP	LA	pH	EE
Control	24.44^{c}	49.07^{a}	22.67^{b}	4.08^{b}	12.63^{a}	84.93^{a}	11.40^{c}	11.62^{c}	69.37^{c}	4.66^{a}	12.63^{a}
CEO60	25.68^{b}	43.43^{b}	25.67^{a}	4.80^{a}	11.66^{c}	79.80^{b}	11.65^{b}	12.29^{b}	80.28^{a}	3.67^{b}	11.65^{c}
CEO120	27.77^{a}	43.46^{b}	22.33^{b}	4.11^{b}	12.46^{b}	73.26^{c}	12.37^{a}	12.47^{a}	78.26^{b}	3.80^{b}	12.45^{b}
SEM	0.201	1.188	0.066	0.036	0.045	0.555	0.036	0.045	0.277	0.061	0.114
P-value	<.0001	0.0155	0.0228	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1715

[1] Control: Alfalfa silage without additives, CEO60: Alfalfa silage with 60 mL cinnamon essential oil/kg, CEO120: Alfalfa silage with 120 mL cinnamon essential oil/kg.

Chemical composition[2]: DM: Dry matter; CP: Crude protein; EE: Ether extract; CA: Crude ash; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber; NH3-N: Ammonium nitrogen (% of total nitrogen), TVFA: Total volatile fatty acid (mm), LA: Lactic acid. WSC: Water soluble carbohydrate.

[a-c] Means within the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

نتایج این آزمایش موافق با نتایج Kung *et al.* (2008) بود که گزارش کردند افزودن مخلوط تجاری (شامل لیمونن، وانیلن، ائوجینول و تیمول در سطح ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ ذرت) به مقدار قابل توجهی pH را کاهش داد. از نتایج این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً چون اسانس‌های گیاهی سبب مهار میکروارگانیسم‌هایی می‌شوند که مسئول فساد در سیلو هستند، باعث کاهش pH شده‌اند. از طرفی، کاهش pH موجب کاهش عمل پروتئولیزها و آنزیم‌های گیاهی یا آنزیم‌های تنفسی می‌شود، که از فساد سیلاژ و تبدیل پروتئین به نیتروژن غیرپروتئینی جلوگیری می‌کند. در آزمایشی گزارش شد که ترکیب تیمول و کارواکرول فعالیت ضد باکتری بالاتری از فعالیت تک‌تک آن‌ها به تنهایی دارد (Lambert et al., 2001). اثر مهارکنندگی اسانس پونه کوهی عمدتاً به دلیل عمل افزایشی ضد باکتریایی این دو ترکیب است. در پژوهشی، Falcone *et al.* (2005) گزارش کردند که تیمول باعث مهار گونه‌های *یکیا* و *کاندیدا* می‌شود که این مخمرها به عنوان آغازگر فساد در سیلو شناخته شده‌اند (Pahlow *et al.*, 2003).

بررسی میزان ماده خشک نشان داد که افزودن اسانس گیاهی به سیلاژ یونجه بر میزان ماده خشک به طور قابل توجهی تاثیر می‌گذارد، به طوری‌که ماده خشک در هر دو تیمار مکمل شده با اسانس دارچین نسبت به شاهد افزایش یافته است و بیشترین میزان ماده خشک مربوط به سطح ۱۲۰ بود (P<۰/۰۵). این می‌تواند به اثر ممانعت‌کنندگی اسانس روی رشد میکروارگانیسم‌های مضر مربوط باشد که از هدر رفت ماده خشک به وسیله این میکروارگانیسم‌ها ممانعت می‌کند. هیچ تاثیر معنی‌داری از افزودن اسانس‌های گیاهی بر سیلاژ جو روی فراسنجه‌هایی مثل ماده خشک، الیاف نامحلول در شوینده اسیدی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و خاکستر گزارش نشد (Chavez *et al.*, 2012). افزایش پروتئین خام و خاکستر خام در مقایسه با شاهد در تیمارهای آزمایشی مشاهده شد. بیشترین میزان مربوط به سطح ۱۲۰ و بعد از آن سطح ۶۰ بود که با شاهد تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵)، که احتمالاً به دلیل تغییر سایر مواد مغذی است (Amanullah *et al.*, 2014).

اثر اسانس بر تجزیه منابع پروتئینی ممکن است به واسطه تاثیر بر جمعیت و فعالیت باکتری‌ها باشد، زیرا این باکتری‌ها علاوه بر فعالیت آمیلولاکتیکی، به واسطه مشارکت در هضم مکمل پروتئینی، چسبیدن و کلونیزه شدن به ماده خوراکی، فعالیت پروتئولایتیکی را کاهش می‌دهند. در آزمایشی گزارش شده است که اسانس‌ها دارای پتانسیل انعقاد بعضی از مواد تشکیل‌دهنده دیواره سلولی، از راه دناتوره کردن پروتئین‌ها هستند (Gustafson and Bowen, 1997). بعضی از ترکیبات فنولی و غیرفنولیک با پروتئین‌ها و سایر مولکول‌های فعال زیستی همانند آنزیم‌ها واکنش می‌دهند (Juven *et al.*, 1994). به نظر می‌رسد افزودن اسانس دارچین به سیلاژ یونجه، باعث مهار فعالیت پروتئولاکتیکی از راه مهار باکتری‌های تجزیه‌کننده پروتئین شده و در نتیجه باعث افزایش معنی‌دار پروتئین خام نسبت به تیمار شاهد می‌شود. بیان شده است که اسانس‌ها از راه جلوگیری از اتلاف ماده خشک باعث حفظ پروتئین خام سیلاژ می‌شوند (Soycan-Onenc *et al.*, 2015).

www.SID.ir

Archive of SID

هادیان و همکاران (۱۳۹۷) تاثیری از افزودن اسانس روی ماده خشک و پروتئین خام سیلاژ نسبت به تیمار شاهد مشاهده نکردند. افزودن اسانس دارچین در دو غلظت ۶۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم به سیلاژ یونجه اثر معنی‌داری بر نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد داشت، به طوری‌که در تیمار ۱۲۰ میلی‌گرم کمترین میزان و بعد از آن تیمار ۶۰ میلی‌گرم قرار داشت و بیشترین میزان نیتروژن آمونیاکی مربوط به تیمار شاهد بود ($P<۰/۰۵$). نیتروژن آمونیاکی سیلاژ شاخصی از تجزیه پپتیدها و اسیدهای آمینه به وسیله ارگانیسم‌های کلستریدیومی است.

افزودن اسانس دارچین باعث افزایش ماده خشک سیلاژ شد ($P<۰/۰۵$). در آزمایشی، Hodjatpanah *et al.* (2016) با افزودن اسانس‌های گیاهی مختلف به سیلاژ ذرت تاثیری بر ماده خشک مشاهده نکردند، که با نتایج این آزمایش مغایرت دارد. در بررسی اثر مقادیر مختلف اسانس گیاهان نعناع و رازیانه بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت در شرایط برون‌تنی، افزودنی اسانس سبب افزایش مقدار ماده خشک نسبت به تیمار شاهد شد، که با یافته‌های این آزمایش مطابق داشت. دلیل این امر به اسیدهای چرب زنجیر کوتاه نسبت داده شد (قربانی و وکیلی، ۱۳۹۳).

افزودن اسانس دارچین سبب کاهش نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ یونجه شد ($P<۰/۰۵$)، که با یافته‌های Kung *et al.* (2008) مخالف و با داده‌های قربانی و وکیلی (۱۳۹۳) موافق بود. در آزمایش Hodjatpanah *et al.* (2016)، اسانس‌های گیاهی دارچین در دو سطح ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم تاثیری بر نیتروژن آمونیاکی سیلاژ ذرت نداشتند. در حالی‌که اسانس گیاهان پونه کوهی و آویشن در هر دو سطح و نعناع در سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک باعث کاهش معنی‌دار نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد شد.

افزودن اسانس به سیلاژ یونجه باعث افزایش پروتئین خام نسبت به تیمار شاهد شد. Hodjatpanah *et al.* (2016) بیان نمودند که اسانس‌های نعناع و پونه در دو سطح ۱۲۰ و ۲۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم سیلاژ یونجه میزان پروتئین خام را نسبت به تیمار شاهد افزایش داد که با یافته‌های این آزمایش مطابقت دارد، در مقابل، Chavez *et al.* (2012) با افزودن اسانس پونه تغییری در پروتئین خام مشاهده نکردند، که احتمالاً به دلیل مقدار استفاده اسانس و نوع سیلاژ مربوط می‌شود.

اثر اسانس دارچین بر میزان تولید گاز حاصل از تخمیر تیمارهای آزمایشی در جدول ۳ و شکل ۱ نشان داده شده است. اسانس دارچین با سطح ۶۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه) از ساعت هشت تا انتهای انکوباسیون تولید گاز کمتری نسبت به تیمار شاهد از خود نشان داد. تیمار شاهد (بدون افزودنی) از ساعت ۲ تا ۲۴ انکوباسیون به همراه سطح ۱۲۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه) اسانس دارچین حجم گاز تولیدی بیشتری نسبت به تیمار اسانس دارچین با سطح ۶۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه) داشتند ($P<۰/۰۵$، جدول ۳). در پایان ۱۲۰ساعت، بیشترین حجم گاز تولیدی مربوط به تیمار اسانس دارچین با سطح ۱۲۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه) و کمترین آن مربوط به اسانس دارچین با سطح ۶۰ (میلی-گرم بر کیلوگرم وزن تر یونجه) بود. نتایج نشان می‌دهد افزودن اسانس دارچین با سطح پایین باعث کاهش و با سطح بالا باعث افزایش تولید گاز شد. در مطالعه‌ای نیز کاهش گاز تولیدی در سطوح مختلف عصاره آویشن گزارش شده است (Martinez *et al.*, 2006). کاهش تولید متان در مطالعه‌ای دیگر نیز در نتیجه استفاده از اسانس آویشن گزارش شده است (Borchers, 1965).

نتایج این آزمایش با نتایج آزمایش Chavez *et al.* (2012) و Hojdatpanah *et al.* (2016) موافق بود. قربانی و وکیلی (۱۳۹۳) در آزمایشی نشان دادند که اسانس‌های نعناع و رازیانه در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم، مقدار تولید گاز از بخش قابل تخمیر سیلاژ ذرت را در مقایسه با تیمار شاهد کاهش دادند. آثار استفاده از اسانس گیاهی آویشن به عنوان افزودنی برای تغییر تخمیر سیلاژ یونجه در نشخوارکنندگان به وسیله روش آزمایشگاهی نشان داد که اسانس آویشن میزان گاز تولیدی را نسبت به تیمار بدون افزودنی کاهش داد (Calsamiglia *et al.*, 2006). در آزمایشی که به وسیله Fraser *et al.* (2007) انجام شد، استفاده از اسانس دارچین، میزان گاز تولیدی در ۲۴ ساعت انکوباسیون را کاهش داد. در بررسی دیگری نشان داده شد که استفاده از اسانس سیر در ۱۷ ساعت انکوباسیون سبب کاهش مقدار تولید گاز شد و با افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار اسانس گیاهی میزان تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی کاهش یافت (Busquet *et al.*, 2005). با توجه به اینکه میزان گاز تولیدی تحت تأثیر هیچ عامل دیگری به جز ترکیبات شیمیایی و خصوصیات فیزیکی مواد غذایی قرار نمی‌گیرد، اما تغییر در فعالیت میکروبی مایع شکمبه نیز ممکن است روی نرخ تخمیر اثر بگذارد (Besharati *et al.*, 2008). بیشترین میانگین گاز تولیدی در تیمار سطح ۱۲۰ با ۱۴۵/۸۵ میلی‌لیتر در گرم ماده خشک و کمترین آن در تیمار سطح ۶۰ به میزان ۱۲۶/۴۶ میلی‌لیتر در گرم ماده خشک در ساعت ۱۲۰ مشاهده شد. در آزمایش Patra *et al.* (2006)، عصاره‌های رازیانه و گل میخک، که با استفاده از اتانول و یا متانول استخراج شده بودند، باعث کاهش گاز تولیدی در محیط برون‌تنی شدند، در حالی‌که عصاره سیر که با استفاده از آب استخراج شده بود، اثر افزایشی بر تولید گاز داشت. در آزمایشی پیشنهاد شد که افزایش تولید گاز می‌تواند به علت افزایش تولید پروپیونات باشد که ناشی از تولید دی اکسید کربن حاصل تولید پروپیونات از مسیر سوکسینات:پروپیونات است (Lee *et al.*, 2003). مطالعه‌ای نشان داد که سطح ۲۵۰ میکرولیتر اسانس زنیان سبب کاهش پتانسیل تولید گاز سیلاژ ذرت شد (مقصودلو و همکاران، ۱۳۹۵). علت کاهش پتانسیل تولید گاز در نتیجه استفاده از اسانس‌ها به عنوان افزودنی سیلویی در مطالعات محدود صورت گرفته به وضوح بیان نشده است، اما اشاره شده است که کاهش پتانسیل تولید گاز می‌تواند به دلیل خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها باشد که با محدود نمودن فعالیت میکروارگانیسم‌ها از تولید گاز جلوگیری می‌کند (مقصودلو و همکاران ، ۱۳۹۵). اسانس آویشن میزان گاز تولیدی را نسبت به تیمار بدون افزودنی کاهش داد (Nanon *et al.*, 2014).

جدول ۳- اثر سطوح مختلف اسانس دارچین روی قابلیت تولید گاز برون‌تنی سیلاژ یونجه در ساعت‌های انکوباسیون (میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک)

Table 3. Effect of different levels of cinnamon essential oil on *in vitro* gas production of alfalfa silage in incubation times (mL/g DM)

Treatments[1]	Incubation times (h)											
	2	4	6	8	12	16	24	36	48	72	96	120
Control	17.61[a]	32.39[a]	40.06[a]	51.20[a]	65.80[a]	82.27[a]	103.98[a]	111.98[b]	123.10[a]	130.90[b]	134.42[b]	136.52[b]
CEO60	15.51[a]	30.83[a]	38.50[a]	42.82[b]	55.94[b]	70.79[a]	89.02[b]	104.74[b]	115.54[b]	122.13[c]	126.46[c]	128.70[c]
CEO120	17.11[a]	34.62[a]	42.22[a]	52.75[a]	66.63[a]	86.10[a]	110.60[a]	123.13[a]	132.72[a]	141.75[a]	145.58[a]	147.14[a]
SEM	1.115	2.005	1.900	2.050	2.521	2.835	2.983	2.911	3.381	3.332	3.221	3.106

[1] Control: Alfalfa silage without additives, CEO60: Alfalfa silage with 60 mL cinnamon essential oil/kg, CEO120: Alfalfa silage with 120 mL cinnamon essential oil/kg.

[a-c] Means within same column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

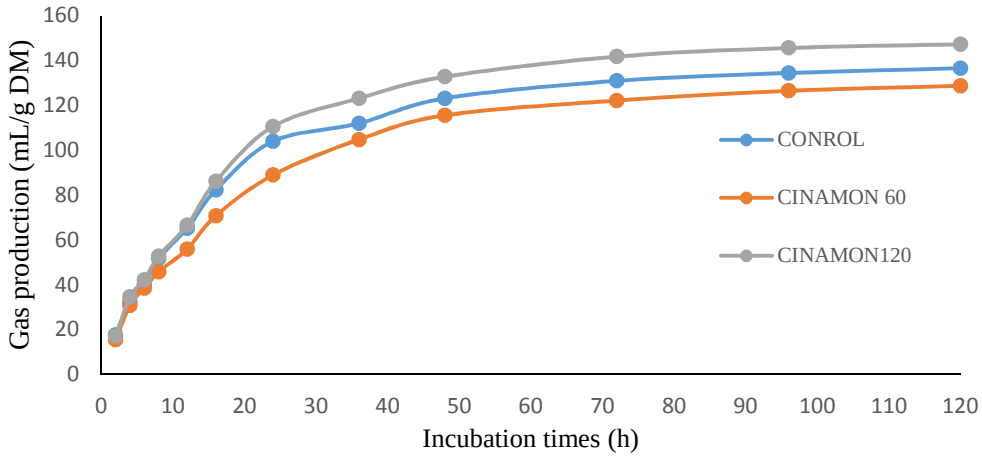

Fig. 1. Effect of different levels of cinnamon essential oil on gas production at different incubation times of alfalfa silage. CONTROL: Alfalfa silage without additives, CINAMON60: Alfalfa silage with 60 mL cinnamon essential oil/kg DM, CINAMON120: Alfalfa silage with 120 mL cinnamon essential oil/kg DM.

شکل ۱- اثر سطوح مختلف اسانس دارچین بر قابلیت تولید گاز در زمان‌های مختلف انکوباسیون سیلاژ یونجه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴- اثر سطوح مختلف اسانس دارچین بر فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ یونجه

Table 4. Effect of different levels of cinnamon essential oil on gas production parameters of alfalfa silage

Treatments[1]	Items[2]									
	b	c	pH	NE_L	SCFA	ME	OMD	DOMD	tVFA	NH_3-N
Control	133.36[b]	0.059[a]	6.60	1.68	0.152	3.22	27.22	24.01	8.62[a]	41.22[a]
CEO60	126.16[b]	0.053[b]	6.63	1.16	0.128	3.08	26.55	23.45	7.14[b]	29.36[b]
CEO120	145.20[a]	0.056[ab]	6.59	1.29	0.158	3.26	27.88	24.41	4.16[c]	48.00[a]
SEM	0.0019	3.109	0.034	0.041	0.0095	0.058	0.385	0.352	0.426	1.354
P-value	0.0033	0.0971	0.6927	0.1079	0.1079	0.1084	0.0884	0.1987	<.0001	<.0001

[1] Control: Alfalfa silage without additives, CEO60: Alfalfa silage with 60 mL cinnamon essential oil/kg, CEO120: Alfalfa silage with 120 mL cinnamon essential oil/kg.

[2] b: Potential gas production (mL/g DM); c: Rate constant of gas production during incubation (mL/h); ME: Metabolizable energy (MJ/Kg DM); SCFA: Short chain fatty acid (mmol/ 0.2 g DM); DOMD: Digestible organic matter in dry matter (%); NE_L: Net energy for lactation (MJ/Kg DM); tVFA: Total volatile fatty acids (mmol/L); NH_3-N: Ammonium nitrogen (mg/L); OMD: Organic matter digestibility (%).

[a-c] Means within same column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

افزودن اسانس‌های گیاهی بر سیلاژ ذرت تأثیر معنی‌داری بر اسیدهای چرب فرار کل و نیتروژن آمونیاکی داشت (*P*<۰/۰۵، جدول ۴). میزان نیتروژن آمونیاکی به طور معنی‌داری در سطح ۱۲۰ میکرولیتر اسانس به ازای هر کیلوگرم وزن تر یونجه افزایش و در سطح ۶۰ میکرولیتر اسانس به ازای هر کیلوگرم وزن تر یونجه کاهش پیدا کرد. Hart *et al.* (2008) با استفاده از محیط کشت حاوی مجموعه‌ای از میکروارگانیسم‌های شکمبه نشان دادند لیمونن، تیمول، وانیلین، گویاکول و نیز عصاره پونه کوهی غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه را کاهش دادند. Brochers (1965) نشان داد که افزودن تیمول به مایع شکمبه منجر به انباشتگی اسیدهای آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی شد. بر این اساس پیشنهاد داده شد که ترکیب ذکر شده مانع از دی‌آمیناسیون اسیدهای آمینه به وسیله باکتری‌های شکمبه می‌شود. به نظر می‌رسد که چون اسانس‌های گیاهی آثار ممانعت‌کننده بر پرتئولیز و دی‌آمیناسیون دارند، احتمالاً آثار ممانعت‌کننده آن‌ها بر فعالیت‌های پروتولایتیکی باعث کاهش تجزیه پروتئین سیلاژ شده و در نتیجه سبب کاهش نیتروژن آمونیاکی نیز می‌شوند. کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی به خاصیت ضد میکروبی اسانس‌ها نسبت داده شده است. این خاصیت باعث محدودیت در فرآیند تخمیر شده و در نتیجه تجزیه پروتئین به آمونیاک کاهش می‌یابد. همچنین بیان شده است که ترکیبات موثره موجود در روغن‌های اسانسی قادر به باند شدن با پروتئین‌ها هستند، که این اتلاف نیتروژن را کاهش می‌دهد. بیشترین انرژی قابل سوخت و ساز در تیمار سطح ۱۲۰ با ۳/۲۶ و کمترین آن در تیمار با سطح ۶۰ به میزان ۳/۰۸ مشاهده شد. بیش‌ترین میزان اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در تیمار سطح ۱۲۰ به میزان ۰/۱۵۸ و کمترین میزان مربوط به تیمار سطح ۶۰ با میزان ۰/۱۲۸ است. بیشترین میزان ماده آلی قابل هضم در ماده خشک در تیمار سطح ۱۲۰ به میزان ۲۷/۸۸ درصد ماده خشک و کمترین آن مربوط به تیمار ۶۰ با میزان ۲۶/۵۵ درصد ماده خشک در مقایسه با شاهد مشاهده شد.

دوزهای پائین تیمول در آویشن و پونه کوهی (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) تاثیری بر تخمیر میکروبی شکمبه به صورت آزمایشگاهی نداشت، اما در دوزهای بالاتر (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر)، غلظت کل اسیدهای چرب فرار و نیتروژن آمونیاکی را کاهش و نسبت استات به پروپیونات را افزایش داد (Castillejos *et al.*, 2005). اسانس ریواس و مونسین سبب کاهش گاز تولیدی و کاهش تولید متان در یک محیط کشت ۲۴ ساعته شدند (Garcia-Gonzalez *et al.*, 2008). در مقابل، در مطالعه‌ای گزارش شد که اسانس‌های نعناع فلفلی، اسطوخودوس، نعناع، ریحان، پونه و آویشن، رازیانه، شوید و زیره در شرایط برون‌تنی، تغییر معنی‌داری در الگوی تخمیر شکمبه، خصوصاً کاهش تولید متان، ایجاد نکردند و تنها تغییرات ناچیزی را موجب شدند (Garcia-Gonzalez *et al.*, 2008).

فعالیت ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در مقابل طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها، شامل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده شده است که به تعدادی از ترکیبات فنولیک و ترپنوئید (Chaves *et al.*, 2008)، اجزای شیمیایی و گروه‌های ساختاری موجود در اسانس‌های گیاهی، نسبت‌های موجود در آن‌ها و آثار

www.SID.ir

Archive of SID

متقابل بین آن‌ها، مربوط می‌شود (Dorman and Deans, 2000). اسانس‌های گیاهی، به علت ماهیت هیدروفوبیک خود (آب‌گریزی)، نزدیکی بالایی به لیپیدهای غشای سلول باکتریایی دارند و ویژگی‌های ضد باکتریایی آن‌ها احتمالاً به ماهیت هیدروفیلیک (چربی‌دوست) آن‌ها مربوط می‌شود. این ساز و کار به ویژگی‌های لیپوفیلیک اجزای تشکیل‌دهنده اسانس‌های گیاهی و توانایی گروه عاملی آن‌ها بستگی دارد (Dorman and Deans, 2000).

خواص هر اسانس بسته به نوع گونه، شرایط اقلیمی محل رویش گیاه، زمان نمونه‌گیری و همچنین زمان برداشت اندام حاوی اسانس تغییر می‌کند (Carlton *et al.*, 1992). غلظت اسانس‌های موجود در گیاهان تحت تأثیر عواملی مانند گونه، زیرگونه، موقعیت جغرافیایی، زمان برداشت گیاه و قسمت مورد استفاده برای اسانس‌گیری قرار دارد (Faleiro *et al.*, 2003). علاوه بر این، عواملی مانند نور و تنش‌های حرارتی و رطوبتی نیز بر غلظت آنها در گیاه تأثیرگذار است.

آثار اسانس دارچین بر پایداری هوازی سیلاژ یونجه در شکل ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه، دمای اولیه برای همه تیمارها مشابه بود. تیمارهای مکمل شده با اسانس دارچین در سطح ۱۲۰ با ۱۵۷/۳ ساعت به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد (۷۷ ساعت)، زمان طولانی‌تری برای افزایش دو درجه سلسیوسی در دمای سیلاژ داشت. در معرض هوا قرار گرفتن سیلاژها ممکن است منجر به فساد سیلاژ شود. افزایش دما، حاصل سوخت و ساز اسیدهای آلی و مواد مغذی باقی‌مانده به وسیله میکروارگانیسم‌های هوازی است. تغییرات دمایی می‌تواند به عنوان شاخصی از توسعه فساد هوازی در سیلاژها باشد. انتظار می‌رود با کاهش سریع pH در طول مراحل اولیه سیلو شدن، از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب سیلویی مانند انتروباکترها و مخمرها جلوگیری شود.

محققین گزارش کردند که افزودن اسانس‌های گیاهی با سطح ۱۲۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ماده خشک سیلاژ جو، باعث حفظ پایداری هوازی سیلاژ تا دو هفته نسبت به تیمار شاهد شد (Chavez *et al.*, 2012). از دلایلی که می‌توان برای عدم آلودگی سیلاژها مخصوصاً سیلاژ شاهد ذکر کرد این است که فشرده‌سازی در حین عملیات سیلوکردن به منظور خروج هوای محبوس در سیلاژ با نهایت دقت انجام شد. عدم رعایت این مورد می‌تواند سبب تبدیل آن به جایگاهی مناسب برای رشد قارچ شود. میزان پایداری هوازی در تیمارهای فرآوری شده با افزودنی اسانس گیاهی نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت، که این می‌تواند به دلیل فعالیت ضد میکروبی و آثار مهارکنندگی برخی از اسانس‌ها که با مهار دآمیناسیون و پروتئولیز از فساد سیلاژ جلوگیری می‌کند، باشد (Hodjatpanah *et al.*, 2016). در مطالعه‌ای، افزودن سه اسانس گیاهی مختلف (برگ دارچین، پونه کوهی و پرتقال شیرین در سطح ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشک) به سیلاژ جو باعث افزایش ثبات هوازی نسبت به تیمار شاهد شد که موافق با داده‌های این آزمایش بود (Chavez *et al.*, 2012). در آزمایش Hodjatpanah *et al.* (2016)، با افزودن اسانس‌های گیاهی مختلف (پونه، آویشن، زیره و دارچین) به سیلاژ ذرت، افزایش میزان ثبات هوازی سیلاژها مشاهده شد. در آزمایش دیگری، افزودن یک ترکیب از اسانس‌های گیاهی مختلف برای تغییر تخمیر سیلاژ ذرت تاثیری بر مخمر، قارچ و انتروباکتریا نداشت، در نتیجه ثبات هوازی نسبت به تیمار شاهد تغییری پیدا نکرد (Kung *et al.*, 2008). به طور کلی، تاثیر افزودنی اسانس بر بهبود پایداری هوازی می‌تواند به وسیله مهار رشد مخمر، قارچ و کپک و همچنین کاهش نرخ دآمیناسیون توضیح داده شود.

نتیجه‌گیری کلی

اسانس دارچین تاثیر معنی‌داری بر نیتروژن آمونیاکی و پروتئین خام داشت، به طوری‌که باعث کاهش میزان ازت آمونیاکی و افزایش پروتئین خام نسبت به شاهد شد. سطوح مختلف دارچین میزان pH را به طور قابل توجهی کاهش داد. همچنین میزان اسیدهای چرب فرار را کاهش و کربوهیدرات محلول در آب را افزایش داد. افزودن اسانس دارچین در سطح بالا باعث افزایش و در سطح پایین باعث کاهش تولید گاز شد. در مجموع، نتایج حاصل اثر مثبت اسانس دارچین بر کیفیت سیلاژ و خصوصیات تخمیری آن را نشان داد.

www.SID.ir

Archive of SID

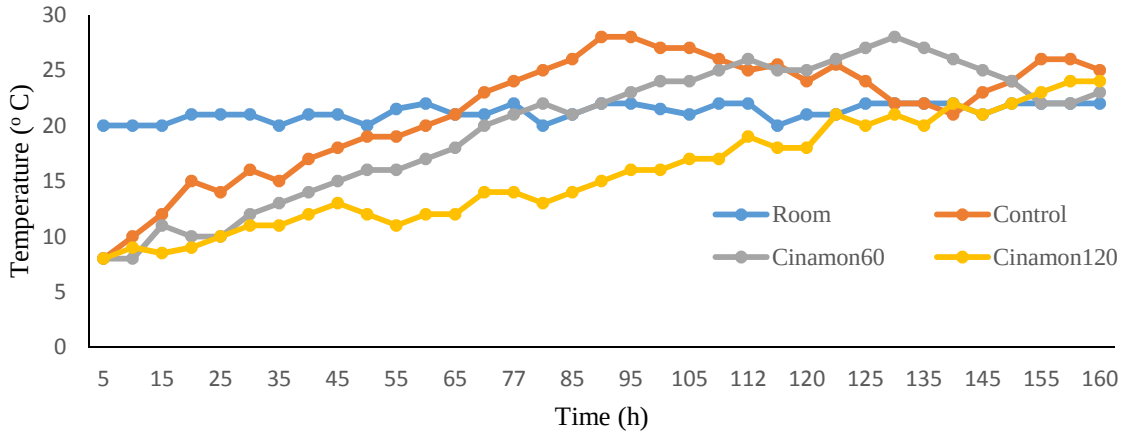

Fig. 2. Effect of adding cinnamon essential oil on aerobic stability of alfalfa silage. CONTROL: Alfalfa silage without additives, Cinamon60: Alfalfa silage with 60 ml cinnamon essential oil/kg DM, Cinamon120: Alfalfa silage with 120 mL cinnamon essential oil/kg DM.

شکل ۲- اثر افزودن اسانس دارچین روی پایداری هوازی سیلاژ یونجه

فهرست منابع

جعفری خورشیدی ک. ۱۳۸۴. راهنمای مدیریت سیلاژ. دانشگاه آزاد اسلامی قائم شهر. انتشارات افکار. ص ۴۱-۶۰.

شریعت ح. ۱۳۷۶. ارزیابی کیفی و کمی ترکیبات فعال و روش های کنترل برای گیاهان دارویی. انتشارات مانی، ص ۲۳-۳۰.

قربانی ه.، و وکیلی س. ع. ۱۳۹۳. اثر مقادیر مختلف اسانس گیاهان نعناع و رازیانه بر ترکیب شیمیایی و فراسنجه‌های تولید گاز سیلاژ ذرت در شرایط برون تنی. ششمین کنگره علوم دامی ایران، دانشگاه تبریز، شهریور ۱۳۹۳.

کریمی م.، بشارتی م.، تقی زاده ا.، و صفری ر. ۱۳۹۶. اثر افزودنی باکتریایی تولید کننده اسید لاکتیک ناهمگن بر ترکیبات شیمیایی و خصوصیات تخمیری مخلوط یونجه پلاسیده شده به همراه تفاله پرتقال. تحقیقات تولیدات دامی، ۶(۱): ۲۷-۳۷.

مقصودلو ف.، بیات کوهسار ج.، قنبری ف.، و طلیعی ف. ۱۳۹۵. تاثیر استفاده از افزودنی های باکتریایی و اسانس رزماری، رازیانه و زنیار بر ترکیب شیمیایی، خصوصیات تخمیری، فراسنجه‌های تولید گاز و قابلیت هضم سیلاژ ذرت در شرایط برون تنی. پژوهش‌های علوم دامی ایران، ۴: ۵۵۳-۵۶۸.

هادیان ف.، قنبری ف.، بیات کوهسار ج.، و راه چمنی ر. ۱۳۹۷. اثر تلقیح باکتریایی و اسانس‌های نعناع، مرزه و زیره بر ترکیب شیمیایی، قابلیت هضم برون‌تنی و فراسنجه‌های تولید گاز آزمایشگاهی سیلاژ ذرت. تحقیقات تولیدات دامی، ۷(۲): ۵۷-۶۷.

Adesogan A. T., Krueger N., Salawu M. B., Dean D. B. and Staples C. R. 2004. The influence of treatment with dual purpose bacterial inoculants or soluble carbohydrates on the fermentation and aerobic stability of bermudagrass. Journal of Dairy Science, 87: 3407-3416.

Amanullah S., Kim D. H., Lee H. J., Joo Y. H., Kim S. B. and Kim S. C. 2014. Effect of microbial additives on chemical composition and fermentation characteristics of barley silage. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 4: 511-517.

Association of offical Analytic chemists (AOAC). 2002. Official method of Analytic. Vol. 1. 17th ed. AOAC, Arilington, VA. Pp: 120-155.

Benchaar C., McAllister T. A. and Chouinard P. Y. 2008. Digestion, ruminal fermentation, ciliate protozoal populations and milk production from dairy cows fed *Cinnamaldehyde*, *Quebracho Condensed Tannin*, or *Yucca schidigera Saponin* Extracts. Journal of Dairy Science, 91: 4765-4777.

Besharati M. and Taghizadeh A. 2009. Evaluation of dried grape by-product as a tanniniferous tropical feedstuff. Animal Feed Science and Technology, 152(3–4): 198-203.

Besharati M., Palangi V., Moaddab M. Nemati Z., Pliego A. B. and Salem A. Z. M. 2020. Influence of cinnamon essential oil and monensin on ruminal biogas kinetics of waste pomegranate seeds as a

www.SID.ir

Archive of SID

biofriendly agriculture environment. Waste and Biomass Valorization, https://doi.org/10.1007/s12649-020-01167-2

Besharati M., Shafipour N., Abdi E. and Nemati Z. 2017. Effects of supplementation alfalfa silage with molasses, orange pulp and *Lactobacillus buchneri* on *in vitro* dry matter digestibility and gas production. Journal of Bioscience and Biotechnology, 6(1): 43-47.

Besharati M., Taghizadeh A., Janmohammadi H. and Moghaddam G. A. 2008. Evaluation of some by-products using *in situ* and *in vitro* gas production techniques. American Journal of Animal and Veterinary Science, 3: 7-12.

Bolsen K. K., Bonilla D. R., Huck G. L., Young M. A. and Hart-Thakur R. A. 1996. Effect of propionic acid bacterial inoculant on fermentation and aerobic stability of whole-plant corn silage. In: Report of progress of Kansas state university agricultural experiment station. Kansas State University, Manhattan, Pp. 78-81.

Brochers R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*. Journal of Animal Science, 24: 1033-1038.

Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A. and Kamel C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. Animal Feed Science and Technology, 123: 597-613.

Calsamiglia S., Castillejos L. and Busquet M. 2006. Recent Advances in Animal Nutrition (Ed.), Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Nottingham, UK: Nottingham University Press. Pp. 129–167.

Cardozo P. W., Calsamiglia S., Ferret A. and Kamel C. 2004. Effects of natural plant extracts on protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. Journal of Animal Science, 82: 3230-3236.

Carlton R. R., Gray A. I. and Waterman P. G. 1992. The antifungal activity of the leaf gland oil of sweet gale (*Myrical gale*). Chemecology, 3: 55-59.

Castillejos L., Calsamiglia S. and Losa R. 2007. Effect of dose and adaptation time of a specific blend of essential oils compounds on rumen fermentation. Journal of Animal Feed Science and Technology, 132: 186-201.

Castillejos L., Calsamiglia S. Ferret A. and Losa R. 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. Animal Feed Science and Technology, 119: 29-41.

Chaves A. V., Baah J., Wang Y., McAllistera T. A. and Benchaar C. 2012. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92: 906-915.

Chaves A. V., Stanford K., Dugan E. R., MGibson L. L., McAllister T. A., Van Herk F. and Benchaar C. 2008. Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Livestock Production Science, 117: 215-224.

Dorman H. J. D. and Deans S. G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88: 308-316.

Dubios A., Giles M. K. A., Hamilton J. K., Ronerts P. A. and Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.

Falcone P., Speranza B., Nobile M. A., Corbo M. R. and Sinigaglia M. 2005. A study on the antimicrobial activity of thymol intended as a natural preservative. Journal of Food Protection, 68: 1664-1670.

Faleiro M. L., Miguel M. G., Ladeiro F., Venancio R., Tavares J. C., Brito A. C., Figueiredo J., Barros G. and Pedro L. G. 2003. Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. Letters in Applied Microbiology, 36: 35-40.

Fedorak P. M. and Hurdy D. E. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. Environmental Technology, 4: 425-432.

Fraser G. R., Chaves A. V., Wang Y., McAllister T. A., Beauchemin K. A. and Benchaar C. 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. Journal of Dairy Science, 90: 2315-2328.

Garcia-Gonzalez R., Lopez S., Fernandez M. and Gonzalez J. S. 2008. Dose–response effects of *Rheum officinal* root and Frangulaalnus bark on ruminal methane production *in vitro*. Animal Feed Science and Technology, 145: 319-334.

Gerbshenzon J., Croteau R., Rosenthal G. A., Berenbaum M. R. 1991. Terpenoidesin Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites. Academic press, San Diego, CA. 1, 165-219.

Giordani R., Regli P., Kaloustian J., Mikail C., Abou L. and Portugal H. 2004. Potentiation of anti-fungal action of amphotericinB by essential oil from thymus vulgaris. Journal of Phytotherapy Research, 18: 990-995.

Gottschalk G. 1986. Propionate and Succinate Fermentation. In: Gottschalk, G. (Ed.) Bacterial Metabolism. Springer-Verlag, New York. Pp. 242-244.

Gustafson R. H. and Bowen R. E. 1997. Antibiotic use in animal agriculture. Journal of Applied Microbiology, 83: 531-541.

www.SID.ir

Archive of SID

Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R. and Newbold C. J. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 147: 8-35.

Hodjatpanah-Montazeri M., Danesh Mesgaran N. and Vakili A. 2016. Effect of essential oils of various plants as microbial modifier to alter corn silage fermentation and *in vitro* methane production. Iranian Journal of Applied Animal Science, 6 (2): 269-276.

Juven B. J., Kanner J., Schved F. and Weisslowicz H. 1994. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. Journal of Applied Bacteriology, 76: 626-631.

Kung Jr. L., Williams P., Schmidt R. J. and Hu W. 2008. A blend of essential plant oils used as an additive to altern silage fermentation or used as a feed additive for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 91: 4793-4800.

Lambert R. J. W., Skandamis P. N., Coote P. and Nychas G. J. E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, 91: 453-462.

Lee S. E., Hwang H. J., Ha J. S., Jeong H. S. and Kim J. H. 2003. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. Life Sciences, 73: 167-179.

Lourrenco M., Ardozo P. W., Calsamiglia S. and Fievez V. 2008. Effects of saponins, quercetin, eugenol and cinnamaldehyde on fatty acid biohydrogenation of forage polyunsaturated fatty acids in dual-flow continueculture fermenters. Journal of Animal Science, 86: 3045-3053.

Makkar, H. P. S. 2004. Recent advances in the *in vitro* gas method for evaluation of nutritional quality of feed resources. Assessing quality and safety of animal feeds. FAO Animal Production and Health Series, 160: 55-88.

Markham R. 1942. A steam distillation apparatus suitable for micro-Kjeldahl analysis. Biochemistry Journal, 36, 790.

Martinez S., Madrid J., Hernandez F., Megias M. D., Sotomayor J. A. and Jordan M. J. 2006. Effect of thyme essential oils (*Thymus hyemalis* and *Thymus zygis*) and monensin on *in vitro* ruminal degradation and volatile fatty acid production. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 6598-6602.

McDougall E. E. I. 1984. The composition and output of sheep in salvia. The Biochemical Journal, 43(1): 99-109.

Nanon A., Suksombat W. and Yang W. Z. 2014. Effects of essential oils supplementation on *in vitro* and in situfeed digestion in beef cattle. Animal Feed Science and Technology, 196: 50-59.

Newbold C. J., McIntosh F. M., Williams P., Losa R. and Wallace R. J. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Animal Feed Science Technology, 114: 105-112.

Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H. and Spoelstra S. F. 2003. Microbiology of ensiling. Pages 31–94 in Silage Science and Technology. D. R. Buxton, R. E. Muck, and J. H. Harrison, ed. American Society of Agronomy, Madison, WI.

Patra A. K., Kamra D. N. and Agarwal N. 2006. Effect of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. Animal Feed Science and Technology, 128: 276-291.

Rowghani E., Zamiri M. J., Khorvash M. and Abdollahipanah A. 2008. The effects of *Lactobacillus plantarum* and *Propionibacterium acidipropionici* on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep. Journal of Journal of Animal and Veterinary Advances, 7: 263-267.

Soycan-Onenc S., Koc F., Coscuntuna L., Ozduven M. L. and Gumus T. 2015. The effect of oregano and cinnamon essential oils on fermentation quality and aerobic stability of field pea silages. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 9: 1281-1287.

Van Soest P. J., Robertson J. B. and Lewis B. A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583-3597.

www.SID.ir

Archive of SID

Animal Production Research

Vol. 9, No. 3, 2020 (85-97)

University of Guilan

Research paper

Effect of different levels of cinnamon essential oil on chemical composition, gas production parameters and aerobic stability of alfalfa silage on *in vitro* condition

M. Besharati[1*], M. Niazifar[2], Z. Nemati[1]

1. Associate Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Nature Resources, University of Tabriz, Ahar, Iran
2. Graduated MSc. in Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Nature resources, University of Tabriz, Ahar, Iran

(Received: 16-10-2019 – Accepted: 22-02-2020)

Abstract

This study was conducted to evaluate the effect of different levels of cinnamon essential oil (CEO; 0, 60 or 120 mg/kg) on chemical composition, aerobic stability and gas production parameters of alfalfa silage on *in vitro* condition. Experimental treatments included: alfalfa without additive (control), alfalfa with 60 mg cinnamon essential oil/kg (CEO60), and alfalfa with 120 mg cinnamon essential oil/kg (CEO120). Silos were kept at room temperature for 60 days. After opening the silos, the chemical composition of the treatments and aerobic stability of the silages were measured. Gas production was measured by *in vitro* method with five replications at 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 36, 48, 72, 96, and 120 hours. The data were analyzed in a completely randomized design. The results showed that adding the essential oil to alfalfa silage significantly reduced the pH of the silage in comparison to control (P<0.05). Adding CEO to alfalfa silage at 60 mg increased water soluble carbohydrate concentration (4.80%; P<0.05) in comparison to control (4.08%). Crude protein content increased in treatments supplemented with CEO (12.47%) in comparison to control. Aerobic stability was increased in CEO treated groups compared to control. Adding 60 mg/kg of CEO reduced the gas production volume compared to control treatment (P<0.05). Overall, the obtained data indicated a positive effect of cinnamon essential oil on the quality of alfalfa silage and its fermentation properties.

Keywords: Cinnamon essential oil, Aerobic stability, *In vitro* gas production, Alfalfa silage

[*]Corresponding author: m_besharati@hotmail.com

doi: 10.22124/ar.2020.14695.1456

www.SID.ir