تولیدات دامی
دوره ۲۰ ■ شماره ۲ ■ تابستان ۱۳۹۷
صفحه‌های ۲۸۱-۲۶۹

اثر عصاره گیاه تشنه‌داری بر راندمان تجزیه‌پذیری و غلظت ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مایع شکمبه با استفاده از دستگاه شبیه‌ساز شکمبه

مریم باقری ورزنه*

استادیار، پژوهشکدهٔ کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۷/۰۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۱۶

چکیده

اثر عصاره گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) به‌عنوان یک افزودنی برای بهبود بازده تجزیه‌پذیری مواد مغذی در شکمبه، غلظت کل ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در یک سیستم شبیه‌ساز شکمبه (رزیتک) بررسی شد. به‌همین منظور از ۱۲ فرمانتور در دو دوره آزمایشی که هر یک ۱۰ روز به‌طول انجامید استفاده شد و پنج روز پایانی هر دوره از مایع درون فرمانتور نمونه‌برداری شد. تیمارها شامل: گروه بدون افزودنی (شاهد)، گروه دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم در روز مونسین (مونسین)، گروه دریافت‌کننده ٤٨٠ میلی‌گرم در روز عصاره گیاهی و گروه دریافت‌کننده ۹٦۰ میلی‌گرم در روز عصاره گیاهی بودند. افزودن عصاره گیاهی در هر دو سطح به‌طور معنی‌داری تولید متان به ازای هر گرم ماده مغذی تجزیه‌شده را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵). تولید کل اسیدهای چرب فرّار به ازای هر گرم ماده خشک و آلی تجزیه‌شده در تیمارهایی که عصاره گیاهی دریافت کرده بودند در مقایسه با شاهد و مونسین بالاتر بود (P<۰/۰۵). آمونیاک تولیدی به ازای هر واحد پروتئین خام تجزیه‌شده در گروهی که ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره دریافت کرده بود، پایین‌تر از گروه شاهد بود (P<۰/۰۵). تیمار دریافت‌کننده ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره، بالاترین غلظت کل ترکیبات فلاونوئیدی، فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نسبت به سایر تیمارها داشت (P<۰/۰۵). بر اساس نتایج این آزمایش، عصاره گیاه تشنه‌داری را می‌توان برای بهبود راندمان تجزیه‌پذیری، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه و کاهش تولید متان به جای آنتی‌بیوتیک مورد توجه قرار داد.

کلیدواژه‌ها: تجزیه پذیری، ترکیبات فایتوژنیک، سیستم شبیه ساز شکمبه (رزیتک)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گیاه تشنه‌داری، متان.

* نویسنده مسئول
Email: bagheri@irost.ir

مقدمه

نشخوارکنندگان به‌واسطه همزیستی مؤثری که با میکروارگانیسم‌های شکمبه دارند توانایی استفاده از الیاف گیاهی با قابلیت هضم پایین را دارند. اسیدهای چرب فرّار یکی از محصولات اصلی تخمیر و منبع تأمین انرژی مورد نیاز میزبان می‌باشند [۲۲]. علاوه بر اسیدهای چرب فرّار، متان محصول دیگری است که از فرایند تخمیر شکمبه‌ای تولید می‌شود. تولید متان نه تنها از نظر زیست‌محیطی و نقشی که در گرمایش زمین دارد مهم است، بلکه بازده استفاده از خوراک در نشخوارکنندگان را کاهش می‌دهد [٤]. بنابراین متخصصان تغذیه سال‌هاست به‌دنبال راه‌های کاهش متان در شکمبه هستند [٤]. استفاده از افزودنی‌های خوراکی یکی از متداول‌ترین سیاست‌ها در کاهش تولید متان است که از دیرباز مورد توجه محققان قرار گرفته است.

مونسین متداول‌ترین یونفر است که به‌عنوان یک محرک رشد در تغذیه نشخوارکنندگان استفاده می‌شود [۲۳]. اثرات مونسین بر متانوژن‌های شکمبه در چند مطالعه نشان داده شده است [۲۳،۸]. اما به‌علت ممنوعیت استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان افزودنی خوراکی در کشورهای عضو اتحادیه اروپا [٤] توجه محققان به ترکیبات حاصل از گیاهان که سالم‌تر هستند، جهت جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها معطوف شده است. این ترکیبات که متابولیت‌های ثانویه گیاهان محسوب می‌شوند ارزش تغذیه‌ای برای گیاه نداشته و فقط آن‌ها را در برابر حشرات، حیوانات علفخوار و میکروارگانیسم‌ها حفظ می‌کنند [۲۲]. مطالعات نشان داده است، ترکیباتی مانند اسانس‌های گیاهی، ساپونین و تانن‌ها دارای خواص ضدمیکروبی می‌باشند [۲۲،٤].

علاوه بر نقش مواد فایتوژنیک به‌عنوان ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک، نکته‌ای که اخیراً توجه محققان را به خود جلب کرده است نقش آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات است، چراکه نشان داده شده است وضعیت آنتی‌اکسیدانی شکمبه می‌تواند بر سلامت و کیفیت محصولات دامی اثرگذار باشد [۵]. میکروارگانیسم‌های شکمبه به‌صورت طبیعی مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی تولید می‌کنند که نقش مهمی در کاهش تنش اکسیداتیو در شکمبه ایفا می‌کنند [۹]. با این وجود افزودن مکمل‌های حاوی آنتی‌اکسیدان به جیره نشخوارکنندگان ممکن است بر تولید و سلامت آن‌ها مؤثر باشد. تاکنون دامنه وسیعی از گیاهان دارویی شناخته شده‌اند که دارای ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، اما در مورد مطالعه پایداری این ترکیبات در شکمبه اطلاعات زیادی وجود ندارد.

فلاونوئیدها گروه بزرگی از ترکیبات فنلی مشتق‌شده از گیاهان هستند که از ترکیبات فایتوژنیک به‌شمار می‌آیند که خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی دارند [۲ و ۱۹]. بیشتر مطالعاتی که به بررسی اثر تغذیه‌ای فلاونوئیدها در تغذیه نشخوارکنندگان پرداخته‌اند اثر این ترکیبات را بر فراسنجه‌های تخمیر شکمبه، تجزیه‌پذیری خوراک و جمعیت میکروبی مورد مطالعه قرار داده‌اند [۱۲ و ۱۹] و گزارشی در مورد اثر این ترکیبات بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی شکمبه و راندمان تخمیر وجود ندارد. تنها در تعداد محدودی مطالعه، تجزیه سریع فلاونوئیدهایی مانند روتین، کوئرسیترین و هسپریدین به ترکیبات محلول در آب توسط میکروارگانیسم‌های شکمبه تحت شرایط بی‌هوازی گزارش شده است [۲۱] و در مطالعه دیگری نیز پایداری ترکیبات آنتی‌اکسیدان ناشی از تخمیر کاه برنج در شرایط درون آزمایشگاهی در محیط شکمبه دیده شده است [۱۰].

گیاه تشنه‌داری (*Scrophularia striata*) گیاهی علفی و گلدار از خانواده *Scrophulariaceae* می‌باشد، با ساقه‌های مربعی و گل‌های دو لبه بازی که تشکیل خوشه

می‌دهند. نام این گیاه از کلمه "Scrofula" به‌معنی بیماری سل می‌آید و علت آن این است که در گذشته گیاهان این خانواده برای درمان بیماری سل استفاده می‌شدند. از این گیاه به‌صورت سنتی برای درمان بیماری‌های عفونی مزمن، روماتیسم و آلرژی استفاده می‌شود. مطالعاتی نیز اثر ضد ادمی، مهار جابه‌جایی و تکثیر لنفوسیت‌های T در بافت‌های همبند، مهار فاکتورهای االتهابی و نیتریت اکساید، خواص ضدمیکروبی و ضدسرطان‌زایی را برای عصاره این گیاه گزارش کرده‌اند [۱۵]. شواهدی نیز وجود دارد که برخی عصاره‌های این گیاه سبب تحریک رشد سلول می‌شود [۱۵]. علی‌رغم گزارش اثرات ضدمیکروبی و وجود ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی در این گیاه [۱۵ و ۱۸]، تا کنون مطالعه‌ای در مورد بررسی اثر عصاره این گیاه بر بازده تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای و وضعیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه انجام نشده است. با وجود خواص ضد میکروبی در عصاره این گیاه، به‌نظر می‌رسد که عصاره این گیاه می‌تواند با تغییر در تخمیر شکمبه‌ای سبب بهبود راندمان تجزیه‌پذیری در شکمبه شود. لذا این آزمایش به‌منظور بررسی اثر عصاره گیاه تشنه‌داری بر راندمان تجزیه‌پذیری و خاصیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه در شرایط شکمبه مصنوعی و مقایسه آن با مونسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی از استان ایلام در غرب ایران به‌صورت خشک‌شده خریداری شد. نمونه‌ها پس از شناسائی و تأیید به‌عنوان *Scrophularia striata* Bioss از خانواده *Scrophulariaceae*، در هرباریوم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد TEHNO. ٦٩١٦ ثبت شد. از نمونه‌ها در آزمایشگاه پژوهشکده تغذیه دام و ترکیبات گیاهی فراسودمند دانشگاه دامپزشکی وین عصاره‌گیری شد. کل مواد گیاهی که شامل ساقه و دانه بود آسیاب شد و به نسبت یک به ۲۵ با اتانل ٦٠ درصد مخلوط گردید. مخلوط حاصل به‌مدت یک ساعت در دستگاه سونیکاتور قرارداده شد و سپس با کاغذ صافی عصاره از مواد گیاهی جدا شد. الکل موجود در عصاره‌ها به تدریج با دستگاه تبخیرگر (Buchi, Flawil, consisting of waterbath B-480, Rotovapor R-124 and Vacum Controller B-72, Switzerland) در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد و تحت خلأ جدا شد و باقیمانده عصاره با استفاده از برودت خشک و پودر حاصل جهت انجام آزمایشات بعدی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

در این مطالعه از دو ست دستگاه شبیه ساز شکمبه (Rumen Simulation Techniqu; RUSITEC) در دانشگاه دامپزشکی وین اتریش استفاده شد [۱۳]. هر ست شامل شش فرمانتور بود. آزمایش در دو دوره ۱۰ روزه تکرار شد. پنج روز اول به منظور عادت‌پذیری و پنج روز دوم برای نمونه‌برداری در نظر گرفته شد. از یک جیره حاوی ۵۰ درصد علوفه و ۵۰ درصد کنسانتره به‌عنوان سوبسترا برای تغذیه فرمانتورها استفاده شد (جدول ۱). سوبستراها، داخل کیسه‌های نایلونی به ابعاد ١٤٠ در ۷۰ میلی‌متر با اندازه منافذ ۱۵۰ میکرومتر ریخته شدند. در هر روز یک کیسه نایلونی در زمان تغذیه داخل فرمانتورها قرار می‌گرفت.

این آزمایش با چهار تیمار و شش تکرار در قالب یک طرح کاملاً تصادفی اجرا شد و تیمارهای آزمایشی شامل گروه شاهد (بدون افزودنی)، مونسین (۱۰ میلی‌گرم در روز نمک سدیم-مونسین)، ٤٨٠ میلی‌گرم عصاره خشک در روز و ٩٦٠ میلی‌گرم عصاره خشک در روز بودند. افزودنی‌ها هر روز صبح در زمان تغذیه فرمانتور به محیط شکمبه اضافه می‌شدند. ظرفیت مفید هر فرمانتور ۸۰۰

میلی‌لیتر بود که قبل از شروع آزمایش و افزودن مایع شکمبه با ۱۰۰ میلی‌لیتر بزاق مصنوعی پر شده بودند [۱۳]. مایع شمکبه از سه گاو هلشتاین غیر شیرده دارای فیستولای شکمبه گرفته شد. بخشی از مایع هضمی نیز با دست برداشته شد و داخل بطری‌های درب بسته ریخته و تا رسیدن به محل آزمایشگاه در محفظه حاوی آب گرم ۳۹ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گاوها از یک جیره حاوی مخلوطی از سیلاژ گراس و علوفه خشک به‌صورت آزاد و ۰/۵ کیلوگرم کنسانتره استفاده می‌کردند. دسترسی به آب آشامیدنی در طول تحقیق برای دام‌ها آزاد بود.

جدول ۱. مواد خوراکی و ترکیبات شیمیایی کنسانتره و جیره پایه استفاده شده به عنوان سوبسترا در رزیتک

اقلام	گرم در کیلوگرم ماده خشک
ترکیب جیره	
علوفه گراس	۵۰۰
کنسانتره	۵۰۰
ترکیب کنسانتره	
دانه جو	۳۷۱
سبوس گندم	۲۲۵
ذرت	۲۵۰
کنجاله منداب	۱۱۱
ملاس	۲۰
کربنات کلسیم	۱۵
کلرید سدیم	۵
پرمیکس ویتامین-مواد معدنی[1]	۳
ترکیب شیمیایی جیره پایه	
مواد آلی	۹۳۶
پروتئین خام	۱۶۷
الیاف نامحلول در شوینده خنثی	۳۷۳
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی	۱۹۵

۱. هر کیلوگرم پرمیکس حاوی ۱۵۰ گرم سدیم، ۶۰ گرم منیزیم، ۶۰ گرم کلسیم، ۴۰ گرم فسفر، ۹۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۵۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3، ۴۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین E، ۲۹۰ میلی‌گرم ید، ۴۰ میلی‌گرم کبالت، ۳۳۲۵ میلی‌گرم منگنز، ۵۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم سلنیوم بود.

مایع شکمبه جمع‌آوری‌شده از گاوها پس از رسیدن به آزمایشگاه به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط شد و با استفاده از چهار لایه پارچه (با منافذ یک میلی‌متر) فیلتر شد و به‌میزان ۶۰۰ میلی‌لیتر به هر فرمانتور اضافه شد. بخشی از مایع شکمبه اولیه برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. بخش جامد جمع‌آوری‌شده از شکمبه سه گاو نیز به نسبت مساوی با یکدیگر مخلوط گردیدند و ۶۰ گرم از آن در داخل کیسه‌های نایلونی پر شد و داخل هر فرمانتور قرار گرفت. کیسه نایلونی دیگری که حاوی ۱۲ گرم سوبسترا بود به هر فرمانتور اضافه شد. پس از شروع به کار دستگاه رزیتک، بزاق مصنوعی از طریق یک پمپ ۱۲ کاناله به‌صورت پیوسته با سرعت ۱۹/۲± ۳۲۶ میلی‌لیتر در روز به داخل فرمانتورها تزریق می‌شد. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون، کیسه‌های حاوی مایع هضمی شکمبه که روز قبل داخل فرمانتورها قرار داده شده بود با کیسه‌های جدید حاوی سوبسترا جایگزین شدند. هر کیسه حاوی سوبسترا، ۴۸ ساعت داخل فرمانتور باقی می‌ماند و سپس با کیسه‌های جدید جایگزین می‌شد. خروجی روزانه فرمانتورها در فلاسک‌های یک لیتری که روی یخ قرار داشتند، جمع‌آوری می‌گردید. گاز تولیدشده نیز درون کیسه‌های آلومنیومی که به هر فرمانتور متصل بود جمع‌آوری می‌شد.

در دوره نمونه‌برداری (پنج روز آخر هر دوره آزمایش) قبل از تغذیه فرمانتور بخشی از مایع داخل و خارج فرمانتور به کمک سرنگ داخل تیوب‌های ۱۰ میلی‌لیتری ریخته شد. این تیوب‌ها برای اندازه‌گیری کل ترکیبات فلاونوئیدی، کل فنل‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حجم گاز حاصل از ۲۴ ساعت تخمیر با استفاده تکنیک

جابه‌جایی آب اندازه‌گیری می‌شد. غلظت گاز متان موجود در هر کیسه با استفاده از یک شناساگر مادون قرمز اندازه‌گیری شد. با فرض استاندارد بودن شرایط محیطی ضریب ۲۲/٤ لیتر در هر مول برای تبدیل حجم گاز تولیدی به مول استفاده شد. کل اسیدهای چرب فرّار با دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC, Model 8060 MS (DPFC, No.:950713, Fisons, Rodena, Italy اندازه‌گیری شد. تجزیه‌پذیری ماده خشک، ماده آلی، الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF)، اسیدی (ADF) و پروتئین خام از طریق تفاضل این مواد مغذی در سوبسترای موجود در کیسه‌هایی که داخل فرمانتور قرار داده شده بود و مقدار باقی‌مانده آنها در کیسه بعد از ٤۸ ساعت تخمیر درون فرمانتور اندازه‌گیری شد [۱۳]. مقدار نیتروژن آمونیاک تولیدی نیز بر اساس روش ایندوفنل و طیف‌سنجی اندازه‌گیری شد [۲٤]. مقدار متان تولیدشده به ازای هر واحد مواد مغذی تجزیه‌شده و راندمان تجزیه‌پذیری در شکمبه به‌ترتیب با استفاده از رابطه‌های ۱ و ۲ محاسبه شد.

(۱) = میزان متان تولیدشده به ازای هر واحد ماده مغذی تجزیه‌شده

گرم ماده مغذی تجزیه شده / میلی‌مول متان تولید شده

(۲) = راندمان تجزیه‌پذیری در فرمانتور

گرم ماده مغذی تجزیه شده / میلی‌مول کل اسید چرب فرّار تولید شده

برای اندازه‌گیری کل ترکیبات فلاونوئیدی در هر چاهک پلیت ۹٦ خانه به‌ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ٤۰ میکرولیتر نمونه، ۱۵ میکرولیتر محلول ۲/۵ درصد $NaNO_2$ و ۱۵ میکرولیتر محلول ۱۰ درصد کلرید آلومنیوم ($AlCl_3.6H_2O$) اضافه شد و به‌مدت پنج دقیقه روی شیکر مخلوط شد. سپس ۵۰ میکرولیتر محلول یک مولار سود به چاهک‌ها اضافه شد و مجدداً به‌مدت پنج دقیقه روی شیکر مخصوص قرار داده شد. جذب پلیت در ٤۹۰ نانومتر قرائت شد. محلول ۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر کاتئین (Catehin) در متانول برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد [۱٤].

برای اندازه‌گیری کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره و مایع شکمبه از روش Folin-Ciocleteau استفاده شد. محلول ۰/۵۵ میلی‌مولار اسید کافئیک برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. به‌طور خلاصه در هر چاهک پلیت ۹٦ خانه به‌ترتیب ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰ میکرولیتر نمونه و پنج میکرولیتر معرف Folin-Ciocleteau اضافه شد و پلیت به‌مدت سه دقیقه روی شیکر مخصوص پلیت قرار گرفت. سپس ۱۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۳/۳ مولار) به هر چاهک اضافه شد. درنهایت مجدداً ۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر به هر چاهک اضافه شد و درب پلیت با پارافیلم بسته و به‌مدت یک ساعت در جای تاریک و دور از نور نگهداری شد. بعد از انکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت شد. در مورد نمونه‌هایی که جذب خارج از رنج منحنی استاندارد داشتند رقیق‌سازی انجام گرفت [۱۱].

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، مایع شکمبه اصلی، مایع درون فرمانتور و خروجی فرمانتور با استفاده از روش FRAP اندازه‌گیری شد [۱]. برای تهیه منحنی استاندارد از محلول ۲/۵ میلی‌مولار ترلوکس در متانل استفاده شد. برای این منظور یک محلول کار شامل ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات (۳۰۰ میلی‌مولار)، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول دو،چهار، شش- تری پریدیل-اس-تریازین و ۲/۵ میلی‌لیتر محلول ۲۰ میلی‌مولار کلرید آهن تهیه و در ظرفی دور از نور نگهداری شد. در پلیت‌ها ۹٦ خانه به‌ترتیب نه میکرولیتر نمونه، ۱۵ میکرولیتر آب مقطر و ۱۸۰ میکرولیتر محلول کار اضافه شد. پلیت‌ها

پنج دقیقه در اتاق تاریک نگهداری شدند سپس جذب نوری آنها در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکت مولتی‌پلیت ریدر (Bio-Rad iMark, USA) اندازه‌گیری شد. برای نمونه‌هایی که غلیظ بودند، رقیق‌سازی تا قرار گرفتن جذب در رنج منحنی استاندارد صورت گرفت. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۲) و رویه MIXED برای مدل رابطه ۳ تجزیه شدند.

$$Y_{ijk}= \mu + T_j +R_j+ \varepsilon_{ijk} \quad (۳)$$

که در این رابطه: Y_{ijk}: مقدار هر مشاهده، μ: میانگین،؛ T_i: اثر تیمار، Rj: اثر دوره آزمایش و ε_{ijk}: اثر خطای آزمایش است. تیمارها به‌عنوان اثر ثابت، دوره آزمایش به‌عنوان اثر تصادفی لحاظ شدند. تیمارها به‌کمک آزمون توکی با P <۰/۰۵ مقایسه شدند.

نتایج

جدول ۲ مقدار ترکیبات فلاونوئیدی، کل ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه‌ای که از گاوهای فیستولاشده گرفته شده پیش از استفاده در فرمانتورها را نشان می‌دهد. علاوه بر این مقدار این ترکیبات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه تشنه‌داری نیز در این جدول نشان داده شده است.

کل گاز تولیدی و متان به‌صورت درصدی از کل گاز در جدول ۳ نشان داده شده است. افزودن ۹۶۰ میلی‌گرم عصاره سبب افزایش معنی‌دار کل گاز تولیدی در مقایسه با مونسین شد ولی نسبت به گروه شاهد تفاوتی نداشت. افزودن مونسین، ۹۶۰ و ۴۸۰ میلی‌گرم عصاره به‌ترتیب کمترین درصد تولید متان را در مقایسه با گروه شاهد به خود اختصاص دادند. جدول ۳ نشان می‌دهد که با افزودن مونسین و عصاره در هر دو غلظت نسبت گاز متان تولیدشده به ازای هر گرم ماده خشک تجزیه شده به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد کاهش یافته است (P<۰/۰۵). این کاهش در مونسین، ۴۸۰ میلی‌گرم عصاره و ۹۶۰ میلی‌گرم عصاره نسبت به گروه شاهد به‌ترتیب ۶۷، ۲۸، ۳۵ درصد بود. همچنین نسبت متان تولیدی به ازای هر گرم ماده آلی تجزیه‌شده نیز در تیمارهایی که مونسین و عصاره گیاهی دریافت کرده بودند به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵). این کاهش در تیمار مونسین بیشتر از تیمارهای دریافت‌کننده عصاره بود (P<۰/۰۵).

نسبت متان تولیدی به الیاف نامحلول در شوینده خنثی (NDF) فقط با مصرف مونسین نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌دار یافت. مصرف هیچ یک از مقادیر عصاره گیاهی تأثیری بر متان تولیدی به‌ازای هر واحد NDF تجزیه شده نداشت. اما نسبت متان تولیدی به الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (ADF) هم در تیمار مونسین و هم در تیمارهایی که عصاره گیاهی دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد کمتر بود (P<۰/۰۵). این کاهش در مونسین ۶۱ درصد و در تیمار حاوی ۴۸۰ میلی‌گرم عصاره ۲۰ درصد و در تیمار حاوی ۹۶۰ میلی‌گرم عصاره ۲۵ درصد بود (P<۰/۰۵).

جدول ۲. ترکیبات فلاونوئیدی، فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه اولیه و عصاره گیاهی

مایع شکمبه اولیه			عصاره گیاهی		
کل ترکیبات فلانوئیدی[۱]	کل ترکیبات فنلی[۲]	فعالیت آنتی‌اکسیدانی[۳]	کل ترکیبات فلانوئیدی[۴]	کل ترکیبات فنلی[۵]	فعالیت آنتی‌اکسیدانی[۶]
۰/۲۳۸	۰/۲۶۲	۰/۳۴۵	۳۴/۸	۶۱/۵	۸۸/۲۵

۱. میکروگرم معادل کاتئین در میکرولیتر نمونه، ۲. میکروگرم معادل کافئیک اسید در میکرولیتر نمونه، ۳. میکروگرم معادل ترولوکس در میکرولیتر نمونه، ۴. میلی‌گرم معادل کاتئین در گرم نمونه، ۵. میلی‌گرم معادل کافئیک اسید در گرم نمونه، ۶. میلی‌گرم معادل ترولوکس در گرم نمونه

نتایج مربوط به نیتروژن آمونیاکی، ناپدید شدن و بازده تجزیه‌پذیری مواد مغذی مختلف در جدول ٤ نشان داده شده است. افزودنی‌ها سبب کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با گروه شاهد شدند که این کاهش در تیماری که ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره را استفاده کرده بود به‌طور معنی‌داری در مقایسه با تیمار مونسین و غلظت کم عصاره پایین بود (P<۰/۰۰۱). ناپدید شدن ماده خشک و ماده آلی با افزودن ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره در مقایسه با مونسین تغییری نداشت هر چند که نسبت به گروه شاهد کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). استفاده از مونسین بر اسیدچرب فرّار تولیدشده از تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی اثری نداشت. اما افزودن عصاره در هر دو غلظت به یک میزان تولید اسید چرب فرّار را در مقایسه با گروه شاهد و مونسین افزایش داد (P<۰/۰۵). تولید اسید چرب فرّار به ازای الیاف نامحلول در شوینده خنثی تجزیه‌شده با افزودن ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره به‌طور معنی‌داری از گروه شاهد و مونسین بیشتر بود (P<۰/۰۵). آمونیاک تولیدشده به ازای پروتئین خام تجزیه‌شده برای تیمارهای دریافت‌کننده ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره، مونسین و ٤۸۰ میلی‌گرم عصاره به‌ترتیب ٤۹، ۳۵ و ۲۳ درصد کاهش در مقایسه با شاهد را نشان داد (P<۰/۰۵).

جدول ۳. اثر عصاره گیاهی و مونسین بر کل گاز تولیدی و متان تولیدی به ازای هر واحد ماده مغذی تجزیه‌شده

فراسنجه	شاهد	مونسین	٤۸۰ میلی‌گرم عصاره	۹٦۰ میلی‌گرم عصاره	SEM	P- value
کل گاز تولیدی (میلی لیتر در روز)	۷۹۸^{ab}	۷۰۸^{b}	۷۹۲^{ab}	۸۸۹^{a}	٤۲/۱	۰/۰۳
متان (درصد از کل گاز تولیدی)	۱٤/۹^{a}	۵/۵^{b}	۱۰/٦^{c}	۸/۵^{d}	۰/۲٤۹	<۰/۰۰۱
میلی‌مول متان تولیدی به ازای هر گرم ماده خشک تجزیه شده	۰/۷۱^{a}	۰/۲۳^{c}	۰/۵۱^{b}	۰/٤٦^{b}	۰/۰۲٦	<۰/۰۰۱
میلی‌مول متان تولیدی به ازای هر گرم ماده آلی تجزیه شده	۰/۸۰^{a}	۰/۲٦^{c}	۰/۵۸^{b}	۰/۵۲^{b}	۰/۰۲۹	<۰/۰۰۱
میلی‌مول متان تولیدی به ازای هر گرم NDF تجزیه شده	۵/۰۷^{a}	۲/۰٤^{b}	٤/۲۱^{a}	٤/۱۰^{a}	۰/۲۷٦	۰/۰۰۰۱
میلی‌مول متان تولیدی به ازای هر گرم ADF تجزیه شده	۱۳/۹^{a}	۵/۳^{c}	۱۱/۰^{b}	۱۰/٤^{b}	۱/۲۹	۰/۰۰۰۳

a-d: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ٤. اثر عصاره گیاهی و مونسین برتولید نیتروژن آمونیاکی، ناپدید شدن مواد مغذی و بازده تجزیه‌پذیری مواد مغذی درون فرمانتور

فراسنجه	شاهد	مونسین	٤۸۰ میلی‌گرم عصاره	۹٦۰ میلی‌گرم عصاره	SEM	P- value
نیتروژن- آمونیاکی (میلی‌گرم در لیتر)	۱۲۰/۱^{a}	۷۹/٤^{b}	۸۸/۲^{b}	۵۹/۲^{c}	۲/۹۷	<۰/۰۰۱
ناپدید شدن ماده خشک (گرم در کیلوگرم)	٦۲٦^{a}	٦۱۳^{ab}	٦۱۱^{ab}	٦۱۰^{b}	۸/۹	۰/۰۳۵
ناپدید شدن ماده آلی (گرم در کیلوگرم)	۵۹۲^{a}	۵۷۹^{ab}	۵۷۷^{ab}	۵٦۷^{b}	۹/۲	۰/۰٤۹
ناپدید شدن NDF (گرم در کیلوگرم)	۲۳۱^{a}	۱۹۱^{b}	۲۰۲^{b}	۱۸۸^{b}	۱۱/۲	۰/۰۳۱
ناپدید شدن CP (گرم در کیلوگرم)	٦۹۵^{a}	٦۷۹^{ab}	٦٦۹^{b}	٦٤۷^{c}	۸/۹	<۰/۰۰۱
میلی‌مول اسید چرب فرّار به ازای گرم ماده خشک نجزیه شده	۹/۲^{b}	۸/٦^{b}	۱۰/۳^{a}	۱۰/۵^{a}	۰/۲۳	<۰/۰۰۱
میلی‌مول اسید چرب فرّار به ازای گرم ماده آلی تجزیه شده	۱۰/٤^{b}	۹/۸^{b}	۱۱/۷^{a}	۱۱/۹^{a}	۰/۲۷	<۰/۰۰۱
میلی‌مول اسید چرب فرّار به ازای گرمNDF تجزیه شده	٦٤/۳^{c}	۷۷/۱^{bc}	۸٤/۰^{ab}	۹۳/٤^{a}	٤/۰۱	۰/۰۰٤
میلی‌مول آمونیاک تولید شده به ازای گرم CP تجزیه شده	٤/۳^{a}	۲/۸^{b}	۳/۳^{b}	۲/۲^{c}	۰/۲۷۳	<۰/۰۰۱

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۵ مقدار ترکیبات فلاونوئیدی موجود در مایع درون فرمانتورها و خروجی آنها را نشان می‌دهد. غلظت ترکیبات فلاونوئیدی در تیمارهای مختلف در درون فرمانتور و مایع خروجی از آن، الگوی یکسانی را نشان می‌دهد.

تمام افزودنی‌ها به‌طور معنی‌داری سبب افزایش غلظت ترکیبات فلاونوئیدی در مایع درون فرمانتورها و خروجی آنها نسبت به گروه شاهد گردیدند. اما این افزایش در غلظت ۹۶۰ میلی‌گرم عصاره به‌طور معنی‌داری از سایر تیمارها بیشتر بود (P<۰/۰۵). کل ترکیبات فنلی درون فرمانتورها و خروجی آنها در جدول ٦ نشان داده شده است. مونسین و عصاره سبب افزایش غلظت ترکیبات فنلی در مایع درون فرمانتور در مقایسه با گروه شاهد شدند، اما تیماری که ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کرده بود بیشترین مقدار ترکیبات فنلی را در مایع درون فرمانتور و خروجی آن داشت (P<۰/۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع درون فرمانتورها و خروجی آنها در جدول ۷ نشان داده شده است. افزودن مونسین و غلظت ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه شاهد هم در مایع درون فرمانتورها هم در خروجی آنها شد (P<۰/۰۵).

جدول ۵. اثر عصاره گیاهی و مونسین بر کل ترکیبات فلاونوئیدی در مایع درون و خروجی فرمانتور (میکروگرم معادل کاتئین در میکرولیتر نمونه)

فراسنجه	شاهد	مونسین	٤۸۰ میلی‌گرم عصاره	۹٦۰ میلی‌گرم عصاره	SEM	P- value
کل فلاونوئید در مایع فرمانتور	۰/۰۲۳^{c}	۰/۰۳۵^{b}	۰/۰۳۲^{b}	۰/۰۵۰^{a}	۰/۰۰۳	<۰/۰۰۱
کل فلاونوئید در مایع خروجی	۰/۰۲۲^{c}	۰/۰۳۸^{b}	۰/۰٤۰^{b}	۰/۰٦۹^{a}	۰/۰۱۱	<۰/۰۰۱

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ٦. اثر عصاره گیاهی و مونسین بر کل ترکیبات فنلی در مایع درون و خروجی فرمانتور (میکروگرم معادل کافئیک اسید در میکرولیتر نمونه)

فراسنجه	شاهد	مونسین	٤۸۰ میلی‌گرم عصاره	۹٦۰ میلی‌گرم عصاره	SEM	P- value
کل ترکیبات فنلی مایع فرمانتور	۰/۰٦۳^{c}	۰/۰۸۸^{b}	۰/۰۸۱^{b}	۰/۱۰۲^{a}	۰/۰۰۳	<۰/۰۰۱
کل ترکیبات فنلی مایع خروجی	۰/۰٦٤^{b}	۰/۰۹۸^{ab}	۰/۰۹۲^{ab}	۰/۱۲۸^{a}	۰/۰۱٤	۰/۰۰۳

a-b: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

جدول ۷. اثر عصاره گیاهی و مونسین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مایع درون و خروجی فرمانتور (میکروگرم معادل ترولوکس در میکرولیتر نمونه)

فراسنجه	شاهد	مونسین	٤۸۰ میلی‌گرم عصاره	۹٦۰ میلی‌گرم عصاره	SEM	P- value
فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مایع فرمانتور	۰/۰٤۷^{c}	۰/۰٦۷^{b}	۰/۰۵۸^{bc}	۰/۰۸٦^{a}	۰/۰۱۰	<۰/۰۰۱
فعالیت آنتی‌اکسیدانی در مایع خروجی	۰/۰٤۸^{c}	۰/۰۷۵^{b}	۰/۰٦۷^{bc}	۰/۱۱۱^{a}	۰/۰۰۷	<۰/۰۰۱

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ردیف معنی‌دار است (P<۰/۰۵).

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها.

بحث

متان یک ترکیب طبیعی حاصل از تخمیر شکمبه است و در واقع مسیری برای حذف هیدروژن متابولیکی تولید شده در فرآیند متابولیسم میکروبی است. در شکمبه دی‌اکسیدکربن مهم‌ترین پذیرنده هیدروژن است که با پذیرش آن به متان تبدیل می‌شود. اما پذیرنده‌های دیگری مانند سولفات، نیترات و فومارات نیز در شکمبه وجود دارند [۱٦]. هیدروژن یک محصول کلیدی در تخمیر شکمبه است و از نظر ترمودینامیکی تولید انواع اسیدهای چرب فرّار را در شکمبه کنترل می‌کند.

داده‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد نسبت متان تولید شده به ازای هر گرم ماده خشک و آلی تجزیه شده در تیمارهای دریافت‌کننده مونسین و عصاره گیاهی کاهش یافته است که این کاهش در تیماری که ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره دریافت کرده بود مربوط به کاهش متان و کاهش معنی‌دار تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی نسبت به گروه شاهد بود و در تیمارهایی که مونسین و ٤۸۰ میلی‌گرم عصاره دریافت کرده بودند بیشتر مربوط به کاهش تولید متان بود. هرچند که کاهش عددی در تجزیه‌پذیری ماده خشک و ماده آلی نسبت به گروه شاهد در این تیمارها نیز دیده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هم مونسین و هم عصاره سبب کاهش تولید متان شدند که شدت این کاهش در تیمار دریافت‌کننده مونسین بیشتر بود. علاوه بر این، بالاتر بودن نسبت کل اسیدهای چرب فرّار به ماده خشک و ماده آلی تجزیه شده در تیمارهایی که عصاره دریافت کرده بودند در مقایسه با مونسین و گروه شاهد نشان می‌دهد که عصاره افزایش تولید کل اسیدهای چرب را هم به همراه داشته است چرا که اگر فقط کاهش مواد مغذی تجزیه شده این نسبت را افزایش داده بود، می‌بایست فقط در تیماری که ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره را دریافت کرده بود این افزایش به چشم بخورد درحالی‌که افزایش معنی‌دار این نسبت در گروهی که غلظت کم عصاره را دریافت کرده بود این فرضیه را قوت می‌بخشد که بخشی از این تفاوت ناشی از افزایش کل اسیدهای چرب فرّار است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد ترکیبات فنلی می‌توانند اثر تحریکی بر رشد برخی از باکتری‌های شکمبه داشته باشند [۳]. لذا تحریک رشد برخی از باکتری‌ها توسط عصاره می‌تواند دلیلی برای تخمیر بیشتر و تولید اسیدهای چرب فرّار بیشتر باشد. نگاهی به کل گاز تولید شده توسط تیمارهایی که عصاره دریافت کرده بودند نشان می‌دهد، این تیمارها نسبت به مونسین و شاهد به لحاظ عددی گاز بیشتری تولید کردند که می‌تواند شاخصی از تخمیر بیشتر باشد.

بیشترین کاهش تولید نیتروژن آمونیاکی هم در تیمار دریافت‌کننده ۹٦۰ میلی‌گرم عصاره دیده شد که کاهش آمونیاک تولید شده را به‌دنبال داشت، و کمتر بودن نسبت آمونیاک تولیدی به پروتئین خام تجزیه شده در این تیمار که به طور معنی‌داری از سایر تیمارها کمتر است مربوط به کاهش آمونیاک و تجزیه‌پذیری پروتئین است. در شکمبه دو گروه مهم از باکتری‌ها هستند که در تولید آمونیاک شرکت می‌کنند، دسته اول باکتری‌هایی با تعداد زیاد و فعالیت کم و دسته دوم باکتری‌هایی با فعالیت زیاد و تعداد کم هستند [۲۰]. حساسیت *کلستریدیوم استیکلندی* و *پپتواستریپتوکوکوس آن ائروب*، مهمترین باکتری‌های تولیدکننده آمونیاک در شکمبه به اسانس‌های گیاهی قبلاً گزارش شده است [۱۷]. کاهش تعداد این باکتری‌ها می‌تواند سبب تغییر تولید آمونیاک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره یا مونسین باشد. اما اظهارنظر قطعی در این مورد نیازمند مطالعه تغییرات میکروبیوم شکمبه است.

از آنجاکه تا کنون مطالعه‌ای در مورد استفاده از عصاره گیاه تشنه‌داری بر تجزیه‌پذیری شکمبه‌ای پروتئین انجام

نشده است داده‌ای برای مقایسه وجود ندارد. اما نتایج حاضر این امیدواری را ایجاد می‌کند که عصاره گیاهی اگر در غلظت بالا استفاده شود بتواند در بهبود راندمان هضم پروتئین با افزایش پروتئین عبوری و تولید آمونیاک کمتر در شکمبه مؤثر واقع گردد. چرا که تولید آمونیاک بیش از نیاز میکروارگانیسم‌های شکمبه سبب اتلاف انرژی، پروتئین و آلودگی‌های زیست‌محیطی می‌گردد.

در این مطالعه از عصاره خام گیاه تشنه‌داری استفاده شد. گزارشی وجود دارد که حضور فلاونوئیدها و ترکیبات فنلی را در این گیاه تأیید می‌کند [۱۵،۱۸]. در مطالعه پیشین کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در عصاره اتانلی این گیاه به‌ترتیب ۷۹/۷ و ۹/۸ میلی‌گرم در گرم گزارش شده بود [۱۵] که در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر تفاوت‌هایی در غلظت‌های گزارش‌شده وجود دارد. متفاوت بودن مرحله رشد گیاه استفاده شده، ترکیب اندام‌های هوایی که جهت عصاره‌گیری استفاده شده‌اند، نسبت حلال به ماده گیاهی و درصد اتانل استفاده شده همگی مواردی هستند که می‌توانند عامل ایجاد این تفاوت باشند. بخشی از بالاتر بودن ترکیبات فلاونوئیدی در مطالعه حاضر نسبت به مطالعات پیشین می‌تواند مربوط به خشک کردن عصاره با برودت باشد چرا که گزارش شده است استفاده از سرما برای خشک کردن نسبت ترکیبات فلاونوئیدی را افزایش و ترکیبات فنلی را کاهش می‌دهد [۷]. هرچند که اثر برخی فلاونوئیدها با درجه خلوص بالا مانند میریستین، کامپفرول، نارینجین، روتین و کوئرسیتین در مدل‌های درون آزمایشگاهی بر تولید متان و تخمیرات شکمبه‌ای بررسی شده است [۱۹] اما گزارشی که به مطالعه اثرترکیبات گیاهی بر وضعیت ترکیبات فلاونوئیدی، کل ترکیبات فنلی و وضعیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه پرداخته باشند، یافت نشد.

تاکنون بیشتر مطالعات که به استفاده از ترکیبات فنلی در تغذیه نشخوارکنندگان پرداخته‌اند خاصیت ضد میکروبی و عبوری کردن پروتئین را از طریق برخی پلی‌فنل‌ها مطرح کرده‌اند [٦ و ۷] اما به تازگی توجه محققان به خواص آنتی‌اکسیدانی همراه با ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و توانایی اثر آنها بر سلامت نشخوارکنندگان معطوف شده است [۲]. گام نخست برای بهره‌مندی از خواص آنتی‌اکسیدانی ترکیبات گیاهی بر سلامت دام، عبور این ترکیبات از شکمبه است. تنها در این صورت است که این ترکیبات می‌توانند در قسمت پسا شکمبه‌ای اثر خود بر سلامت را ایفا کنند. مهم‌ترین هدف این مطالعه بررسی غلظت ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی در شکمبه و مایعات خروجی از شکمبه در شرایط شبیه‌سازی شده آزمایشگاهی بود. از آنجاکه در سیستم‌های درون آزمایشگاهی اثر موجود زنده حذف می‌گردد نتایج مستقل از میزبان خواهند بود. در مطالعه حاضر در اکثر موارد غلظت مشابهی از این ترکیبات در مایع درون فرمانتور و خروجی آن وجود داشت که نشان‌دهنده فرار بخشی از این مواد از تجزیه‌پذیری میکروبی در شکمبه است. شدت تجزیه‌پذیری ترکیبات فنلی به‌ویژه فلاونوئیدها تحت تأثیر ساختار شیمیایی آنها است [۱۹]. به‌عنوان مثال تجزیه‌پذیری بالاتر روتین، کوئرسیترین و ناریجنین در مقایسه با کاتکول گزارش شده است [۲۱].

در ترکیبات گیاهی، فلاونوئیدها عمدتاً به‌صورت گلیکوزیدی هستند که در آن آگلیکون با پیوند بتا-گلیکوزیدی به بنیان‌های قندی مختلف متصل است [۲]. فلاونوئیدها برای اعمال اثرات بیولوژیک خود باید به فرم فعال متابولیکی تبدیل شوند. در مطالعه حاضر امکان اندازه‌گیری متابولیت‌هایی از فلاونوئیدها که از شکمبه مصنوعی خارج شدند میسر نگردید. ولی در تحقیقات آتی لازم است که مشخص شود این گونه ترکیبات تحت تخمیر شکمبه دستخوش چه تغییرات ساختاری می‌گردند.

نکته جالب توجه در مورد اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع شکمبه این است که در ابتدا از روش DPPH برای اندازه‌گیری این فراسنجه در مایع درون فرمانتورها استفاده شد. اما نتایج نشان داد، معرف‌ها و موادی که در روش DPPH استفاده می‌شوند با مواد بزاق مصنوعی یا بافری که در سیستم رزیتک استفاده می‌شود واکنش داده و کدورت ایجاد می‌کند. لذا به جای این روش از روش احیای یون فریک (روش FRAP) برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی مایع درون فرمانتورها استفاده شد. این مسئله از نظر متدولوژی تحقیق حائز اهمیت است چرا که استفاده از هر دو روش زمانی که مایع شکمبه از بدن حیوان استحصال می‌شود بلامانع است ولی در سیستم‌های in vitro که از بزاق مصنوعی مک دوگال استفاده می‌شود روش DPPH مناسب نیست.

نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از غلظت بالای عصاره بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در مقایسه با گروه شاهد سبب می‌گردد. نکته قابل توجه دیگر این تحقیق این بود که کل ترکیبات فلاونوئیدی، فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمارهایی که مونسین به آنها اضافه شده بود در اکثر موارد نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. مکانیسم دقیق اثر مونسین بر غلظت ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در شکمبه به‌درستی مشخص نیست اما استفاده از محلول ۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مونسین به‌عنوان نمونه در تست اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی باعث ایجاد کدورت در چاهک‌ها شد که نشان می‌دهد این افزایش جذب احتمالاً مربوط به واکنش خود مونسین با معرف‌های استفاده شده در این آنالیزها می‌باشد و مونسین فاقد اثر بیولوژیکی بر این ترکیبات است.

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از عصاره گیاه تشنه‌داری می‌تواند الگوی تخمیر را به‌گونه‌ای در شکمبه تغییر دهد که متان کمتری در ازای تجزیه مواد مغذی تولید کرده و راندمان تجزیه‌پذیری پروتئین را در مقایسه با آنتی‌بیوتیک افزایش دهد. توانایی عصاره در بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی شکمبه هم در این مطالعه تأیید شد که اظهارنظر قطعی در مورد اثر آن بر سلامت دام به تحقیقات درون تنی نیاز دارد.

سپاسگزاری

این پروژه با حمایت مالی مرکز مطالعات و همکاری‌های علمی بین‌المللی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری در دانشگاه دامپزشکی دانشگاه وین انجام شده است. از Q. Zebeli، F. Klevenhusen، M. Qumar و P. Pourazad تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Benzie IF and Strain JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239(1): 70-76.
2. Berger LM, Wein S, Blank R, Metges CC and Wolffram S (2012) Bioavailability of the flavonol quercetin in cows after intraruminal application of quercetin aglycone and rutin. Journal of Dairy Science. 95(9): 5047-5055.
3. Borneman WS, Akin DE and VanEseltine WP (1986) Effect of phenolic monomers on ruminal bacteria. Applied and Environmental Microbiology. 52(6): 1331-1339.
4. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A and Kamel C (2006) Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 89(2): 761-71.
5. Castillo C, Pereira V, Abuelo Á and Hernández J (2013) Effect of supplementation with antioxidants on the quality of bovine milk and meat production. The Scientific World Journal. 2013: 1-8.
6. Cattani M, Tagliapietra F, Bailoni L, and Schiavon S (2012) Synthetic and natural polyphenols with antioxidant properties stimulate rumen microbial growth in vitro. Animal Production Science. 52(1): 44-50.

7. De Paula EM, Samensari RB, Machado E, Pereira LM, Maia FJ, Yoshimura EH, Franzolin R, Faciola AP, and Zeoula LM (2016) Effects of phenolic compounds on ruminal protozoa population, ruminal fermentation, and digestion in water buffaloes. Livestock Science. 185: 136-141.
8. García-González R, González JS and López S (2010) Decrease of ruminal methane production in Rusitec fermenters through the addition of plant material from rhubarb (*Rheum* spp.) and alder buckthorn (*Frangula alnus*). Journal of Dairy Science. 93(8): 3755-3763.
9. Gazi MR, Yokota M, Tanaka Y, Kanda S and Itabashi H (2007) Effects of protozoa on the antioxidant activity in the ruminal fluid and blood plasma of cattle. Animal Science Journal. 78(1): 34- 40.
10. Jahromi MF, Liang JB, Yahaghi M and Shokryazdan P (2013) Biological treatment for enhancement of the antioxidant capacity in agro-biomass as animal feed. African Journal of Microbiology Research. 7(22): 2770-2775.
11. Kaur C and Kapoor HC (2002) Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. Internatonal Journal of Food Science and Technology. 37(2): 153-161.
12. Kim ET, Le Luo Guan SJ, Lee SM, Lee SS, Lee ID, Lee SK and Lee SS (2015) Effects of flavonoid-rich plant extracts on in vitro ruminal methanogenesis, microbial populations and fermentation characteristics. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 28(4): 530-537.
13. Klevenhusen F, Deckardt K, Sizmaz Ö, Wimmer S, Muro-Reyes A, Khiaosa-Ard R, Chizzola R, and Zebeli Q (2015) Effects of black seed oil and Ferula elaeochytris supplementation on ruminal fermentation as tested in vitro with the rumen simulation technique (Rusitec). Animal Production Science. 55(6): 736-744.
14. Leontowicz M, Gorinstein S, Leontowicz H, Krzeminski R, Lojek A, Katrich E, ... and Trakhtenberg S (2003) Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51(19): 5780-5785.
15. Mahboubi M, Kazempour N and Nazar AR (2013) Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss extracts. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. 8(1): 15-19.
16. McAllister TA and Newbold CJ (2008) Redirecting rumen fermentation to reduce methanogenesis. Australian Journal of Experimental Agriculture. 48(2): 7-13.
17. McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, and Newbold CJ (2003) Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism**.** Applied and Environmental Microbiology. 69(8): 5011-5014.
18. Monsef-Esfahani HR, Hajiaghaee R, Shahverdi AR, Khorramizadeh MR and Amini M (2010) Flavonoids, cinnamic acid and phenyl propanoid from aerial parts of *Scrophularia striata.* Pharmaceutical Biology. 48(3): 333-336.
19. Oskoueian E, Abdullah N and Oskoueian A (2013) Effects of flavonoids on rumen fermentation activity, methane production, and microbial population. BioMed Research International. 2013: 1-7.
20. Russell JB, Onodera R and Hino T (1991) Ruminal protein fermentation: new perspectives on previous contradictions. In Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants 681-697.
21. Simpson FJ, Jones GA and Wolin EA (1969) Anaerobic degradation of some bioflavonoids by microflora of the rumen. Canadian Journal of Microbiology. 15(8): 972-974.
22. Śliwiński BJ, Soliva CR, Machmüller A and Kreuzer M (2002) Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology. 101(1): 101-14.
23. Wallace RJ, Czerkawski JW and Breckenridge G (1981) Effect of monensin on the fermentation of basal rations in the rumen simulation technique (Rusitec). British Journal of Nutrition. 46(1): 131-148.
24. Weatherburn MW (1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. Analytical Chemistry. 39(8): 971-974.

Animal Production
(*College of Abouraihan – University of Tehran*)

Vol. 20 ■ No. 2 ■ Summer 2018

Effect of *Scrophularia striata* extract on efficiency of degradation, concentration of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity in ruminal fluid using a rumen simulation technique (RUSITEC)

Maryam Bagheri Varzaneh*

Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

Received: April 11, 2018 Accepted: June 6, 2018

Abstract
Extract of *Scrophularia striata* (ES) was tested as a feed additive for improving the efficiency of ruminal degradation of nutrients, concentration of total phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity using the rumen simulation technique (RUSITEC). Twelve fermentation units (vessels) were set up for 2 experimental runs each lasting 10 d wherein the last 5 days served for sampling. Treated vessels were supplied with no additive (Control), 10 mg/d monensin (Monensin), and 480 and 960 mg/d of ES, respectively. Both levels of ES and monensin decreased methane production expressed per gram nutrients degraded ($P<0.05$). Production of total volatile fatty acid per gram DM and organic matter degraded was higher in ES treatments in comparison with control and Monensin ($P<0.05$). The ammonia production expressed per gram CP degraded was lower than control only in the high level of ES supplementation ($P<0.05$). The latter treatment also resulted in the highest concentration of total flavonoid, phenol lic compounds and antioxidant activity compared to other treatments ($P<0.05$). Based on the present results, ES could be considered as an alternative to antibiotic for improving the efficiency of degradation, increasing ruminal antioxidant activity and decreasing methane production.

Keywords: Antioxidant activity, degradability, methane, phytogenic compounds, rusitec, *Scrophularia striata*.

Corresponding author: bagheri@irost.ir