ISLAMIC AZAD UNIVERSITY

SHABESTAR BRANCH

Faculty of Agriculture
Department of Animal Science
Ph.D. Thesis on Animal Nutrition

Subject

Effects of emulsified essential oils of a medicinal herbs mix on performance, nutrient digestibility, blood metabolites and immunity of suckling calves

Supervisors:

Dr. Hossein Abdi-Benemar

Dr. Naser Maheri-Sis

Co-Supervisors:

Dr. Ramin Salamatdoust-Nobar

Dr. Abdelfattah Z. M. Salem

By:

Mahdi Asghari

2021

Effects of emulsified essential oils of a medicinal herbs mix on performance, nutrient digestibility, blood metabolites and immunity of suckling calves

Abstract

First Experiment: The purpose of this experiment was to investigate the effect of different levels of an emulsified essential oils blend on blood metabolites and the immune system of sucking calves. At first experiment, 40 suckling calves with an average body weight of 40.4±3 kg from the age of 7 days were used in a completely randomized design with 4 treatments and 10 replications. The experimental groups were: 1) control group, 2) calves receiving 100 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk, 3) calves receiving 200 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk, 4) Calves receiving 300 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk. Four medicinal plants including *Thymus kotschyanus*, *Lavandula angustifolia*, *Capparis spinosa* and *Salvia officinalis* were used to prepare the essential oils blend.The results showed that the experimental treatments did not affect dry matter intake and feed conversion ratio. Weight gain of 1-14 days and the whole period were not affected by feeding different levels of emulsified essential oils, but weight gain of 14-28 days and 28-43 days increased linearly ($P<0.01$). Blood concentrations of glucose, cholesterol and beta-hydroxybutyrate were not affected by a mixture of plant essential oils, but the concentrations of triglycerides and urea nitrogen in the blood increased and decreased linearly, respectively ($P<0.05$). Feeding the emulsified essential oil blend caused a significant linear decrease in blood concentrations of liver enzymes including aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase at 30 days and gamma-glutamyl transferase at 15 and 30 days ($P<0.05$). The concentrations of superoxide dismutase and glutathione peroxidase were not affected by the experimental treatments, whereas the blood concentration of malondialdehyde decreased and the blood antioxidant activity increased linearly by increasing essential oil levels ($P<0.05$). Feeding the micellar mixture of plant essential oil reduced linearly the excretion of lactobacilli and E. coli in the feces ($P <0.01$). Based on the results, the positive effects of the emulsified essential oil on improving the growth and health of sucking calves were observed and the level of 300 mg per day had the best results.

At second experiment, 50 male Holstein calves were used from the 7th day after birth (mean body weight 39.6 ±3.6 kg) to evaluating the effect of feeding a blend of plant essential oils, vitamin C and vitamin E on their performance, blood metabolites and the immune system. The experimental groups were: 1) control group (CON), 2) calves receiving 300 mg essential oil mixture per day as emulsified form, 3) calves receiving 600 mg vitamin C per day as emulsified form, 4) calves receiving 500 IU vitamin E per day as emulsified form and 5) calves receiving 300 mg essential oil blend with 600 mg vitamin C and 500 IU vitamin E per day as emulsified form. Feed intake, daily weight gain and conversion ratio were not affected by experimental treatments. Blood glucose and albumin concentrations were significantly affected by experimental treatments ($P<0.01$). Calves receiving vitamin E had higher glucose level and blood urea nitrogen concentration was significantly lower in calves receiving essential oil ($P<0.01$). The highest blood level of beta-hydroxybutyrate was observed in calves receiving essential oil with vitamins E and C ($P<0.05$). Blood levels of liver enzymes including aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and gamma-glutamyl transferase decreased at 30 days by experimental treatments ($P <0.01$). Glutathione peroxidase concentration was affected by experimental treatments at 15 and 30 days (P

<0.01). The lowest concentration of malondialdehyde and the highest blood antioxidant status were observed in calves receiving plant essential oil, vitamin E and vitamin C. According to the results, the use of the emulsified form of plant essential oil, vitamin C and vitamin E were effective in improving blood parameters related to health and oxidative status.

Keywords: plant essential oil, emulsion, suckling calf, performance, health.

دانشگاه آزاد اسلامی

گروه علوم دامی

رساله دکتری رشته تغذیه دام (Ph.D.)

عنوان:

اثرات اسانس امولسیفیه شده یک مخلوط گیاه دارویی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و ایمنی گوساله‌های شیرخوار

اساتید راهنما:

دکتر حسین عبدی بنمار - دکتر ناصر ماهری سیس

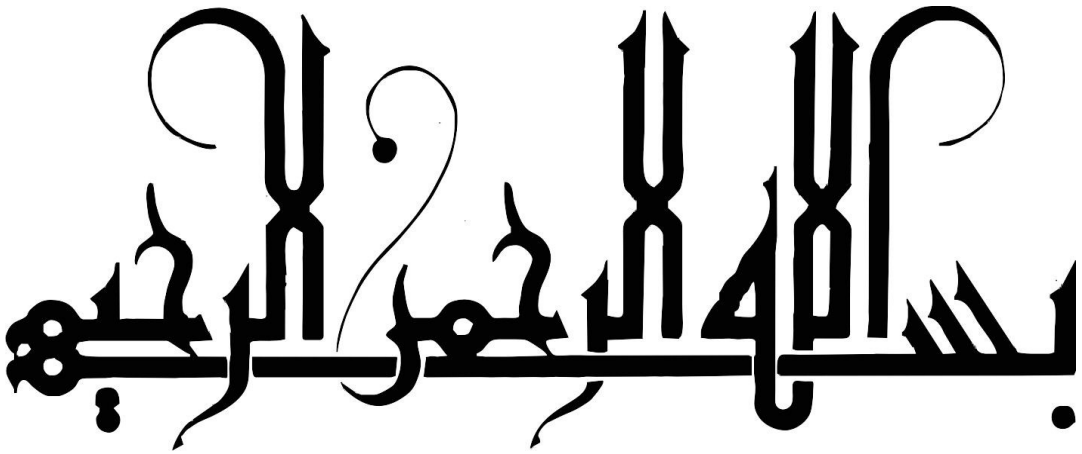
اساتید مشاور:

دکتر رامین سلامت دوست - دکتر عبدالفتاح زیدان محمد سالم

پژوهشگر:

مهدی اصغری

تابستان ۱۴۰۰


بسم الله الرحمن الرحيم

بسمه تعالی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر

حوزه پژوهش و فناوری

فرم اعلام آمادگی دفاع رساله: (دکتری تخصصی) گردش کار اعلام آمادگی دانشجو برای دفاع از رساله در نیمسال اول/ دوم

توجه: دانشجویان عزیز باید این فرم را در نیمسال اخذ پایان نامه، از سایت دانشگاه دریافت نموده و در صورت دفاع از رساله در نیمسال اول و در نیمسال دوم (طبق بخشنامه که در سایت اعلام می شود) به صورت امضاء شده (به ترتیب نوشته شده) به تحصیلات تکمیلی تحویل دهند.

۱- با توجه به بررسی‌های به عمل آمده از پرونده و وضعیت تحصیلی دانشجو نام: نام خانوادگی: شماره دانشجویی: رشته تحصیلی:

دفاع از رساله تا آخر نیمسال اول ☐ نیمسال دوم☐ سال تحصیلی از نظر اداره امتحانات و آموزش بلامانع است. در صورت عدم دفاع از رساله در نیمسال تحصیلی اعلام شده، مجددا باید بررسی گردد

تاریخ و امضاء مسئول اداره امتحانات تاریخ و امضاء مسئول آموزش

۲- تاریخ احد کد شناسایی رساله (زمان دفاع حداقل یکسال پس از تصویب رساله در شورای پژوهشی) تاریخ و امضاء کارشناس تحصیلات تکمیلی

۳- مستندات و مقاله مستخرج از رساله (با نمایه ISI، علمی و پژوهشی) مورد تأیید بوده و دانشجو آماده دفاع از رساله است

تاریخ وامضاء استاد راهنما اول تاریخ وامضاء استاد راهنما دوم تاریخ وامضاء استاد مشاور اول تاریخ وامضاء استاد مشاور دوم

تاریخ و امضاء مدیر گروه تاریخ و امضاء مدیر پژوهش

۴- استادان محترم داور: سرکارخانم / جناب آقای (داور داخلی)

۱- سرکارخانم / جناب آقای (داور خارجی) ۲- سرکارخانم / جناب آقای (داور خارجی)

شما به عنوان داور رساله سرکار خانم / آقای تحت عنوان انتخاب شده اید لطفا اعلام نظر فرمائید

تأیید و امضاء داور داخلی ۱- تأیید و امضاء داور خارجی ۲- تأیید و امضاء داور خارجی

۵- استادان محترم کمیته نظارت بر تحقیق:

۱- تأیید و امضاء عضو کمیته نظارت بر تحقیق ۲- تأیید و امضاء عضو کمیته نظارت بر تحقیق

۶- با سلام، احتراماً با توجه به بررسی پرونده مالی دانشجو، دفاع از رساله از نظر امور مالی بلامانع است

اداره صندوق رفاه دانشجویان اداره امور شهریه

۷- تأییدیه دفتر جذب هیات علمی مبنی بر تحویل مدارک استاد راهنما یا مشاور یا داور) خارج از دانشگاه تاریخ و امضاء رئیس دفتر استخدام هیات علمی

۸- تاریخ دفاع: ساعت: مکان: تاریخ و امضاء مدیر گروه تاریخ و امضاء کارشناس تحصیلات تکمیلی

تاریخ و امضاء رئیس اداره پژوهش

۹- با توجه به بررسی‌های انجام شده اجازه دفاع دارد تاریخ و امضاء سرپرست معاونت علمی، آموزشی و پژوهشی

***دانشجوی گرامی: لطفا این پیوست را تا انتها به دقت مطالعه نمایید. بدیهی است بخش مرجع و نشریات از پذیرفتن پایان نامه هایی که با فرمت نگارش پایان نامه مورد تایید دانشگاه مطابقت ندارند، معذور می باشد.**

دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شبستر

تعهدنامه اصالت رساله

اینجانب **مهدی اصغری** دانش‌آموخته مقطع کارشناسی ارشد ناپیوسته/ دکترای حرفه‌ای در رشته تغذیه دام که در تاریخ ۲۸ تیر ۱۴۰۰ از پایان‌نامه خود تحت عنوان: **اثرات اسانس امولسیفیه شده یک مخلوط گیاه دارویی بر عملکرد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و ایمنی گوساله‌های شیرخوار**

با کسب نمره ۱۹ و درجه خیلی خوب دفاع نموده‌ام بدین‌وسیله متعهد می‌شوم:

۱) این پایان‌نامه/ رساله حاصل تحقیق و پژوهش انجام‌شده توسط اینجانب بوده و در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران (اعم از پایان‌نامه، کتاب، مقاله و ....) استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و رویه موجود، نام منبع مورداستفاده و سایر مشخصات آن را در فهرست مربوطه ذکر و درج کرده‌ام.

۲) این پایان‌نامه/ رساله قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی (هم‌سطح، پایین‌تر یا بالاتر) و در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزش عالی ارائه نشده است.

۳) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده و هرگونه بهره‌برداری اعم از چاپ کتاب، ثبت اختراع و از این پایان‌نامه داشته باشم، از حوزه معاونت پژوهشی واحد مجوزهای مربوطه را اخذ نمایم.

۴) چنانچه در هر مقطع زمانی خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می‌پذیرم و واحد دانشگاهی مجاز است با اینجانب مطابق ضوابط و مقررات رفتار نموده و در صورت ابطال مدرک تحصیلی‌ام هیچ‌گونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی دانشجو مهدی اصغری

۱۴۰۰/۰۵/۲۸ تاریخ و امضاء

گواهی امضاء: دانشجوی فوق‌الذکر احراز هویت شد فقط امضای ایشان گواهی می‌گردد.

دفتر تحصیلات تکمیلی

تاریخ و امضاء

سپاسگزاری

سپاس بی‌کران پروردگار یکتا را که هستی‌مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به هم‌نشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه‌چینی از علم و معرفت را روزی‌مان ساخت، به امید آنکه توفیق یابم جز خدمت به خلق او نکوشم.

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی‌شائبه‌ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم.

اما ازآنجایی‌که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تأمین می‌کند بر خود وظیفه می‌دانم، از باب "من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق" از همه معلمانی که تابه‌حال به بنده درس علم و ادب آموختند، تشکر و قدردانی کنم. از اساتید عزیزم؛ جناب آقای دکتر حسین عبدی بنمار و جناب آقای دکتر ناصر ماهری سیس، که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛ از اساتید مشاور گرامی جناب آقای دکتر رامین سلامت دوست و جناب آقای دکتر عبدالفتاح زیدان محمد سالم به خاطر رهنمودهای علمی و اخلاقی ارزنده‌شان بسیار سپاسگزارم و از استاد فرزانه و دلسوز جناب آقای دکتر ابوالفضل آقاجانزاده داور داخلی جناب آقای دکتر امیر رضا کرمی داور خارجی جناب آقای دکتر جمال سیف دواتی داور خارجی جناب آقای دکتر ابوالفضل قربانی ناظر رساله که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم، باشد که این خردترین بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

همچنین از خانواده عزیزم که با نهایت صبر و با حمایت کامل فکری و معنوی در دوران تحصیل موجبات دل گرمی مرا مهیا نموده‌اند، بی‌نهایت امتنان و سپاسگزاری نموده توفیق همه را از درگاه باری‌تعالی مسئلت دارم.

خدایا مرا به علم توانگر ساز و به حلم زینت‌بخش و به تقوا عزیز کن و به عافیت زیبایی ده .

خدایا! از زوال نعمت و تغییر عافیت و غضب ناگهانی و همه‌چیزهایی که مایه ناخشنودی توست به تو پناه می‌برم .

خدایا! تو را به غیب‌دانی و قدرتی که بر آفرینش داری سوگند می‌دهم تا موقعی که زندگی را برای من بهتر می‌دانی مرا زنده نگهدار و موقعی که مرگ را برای من بهتر می‌دانی مرا بمیران .

خدایا! از تو می‌خواهم که ترس خود را در آشکار و نهان نصیب من کنی و در حال خشنودی و خشم کلمه اخلاص را به زبان من جاری نمایی و در حال فقر و توانگری میانه‌روی را شعار من سازی .

خدایا! چنان‌که خلقت مرا نیک کردی، سیرتم را نیز نیک کن.

خداوندا! یک‌لحظه مرا به خودم واگذار مکن.

یارب دل ما را تو به رحمت جان‌ده درد همه را به صابری درمان ده
این بنده چه داند که چه می‌باید جست داننده تویی هر آنچه دانی آن ده

مهدی اصغری- تابستان ۱۴۰۰

تقدیم و تشکر

ماحصل آموخته‌هایم را تقدیم می‌کنم به آنان که مهر آسمانی‌شان آرام‌بخش آلام زمینی‌ام است

تقدیم به پدر شهیدم، که به من درس ایثار، گذشت و چگونه جاودانه زیستن را آموخت.
ولا تحسبن الذین قتلوا فی سبیل الله امواتا بل احیاء عند ربهم یرزقون...(سوره آل عمران آیه ۱۶۹)

تقدیم به کسی که خود ناتوان شد تا من توانمند شوم، مقدس‌ترین واژه در لغت‌نامه دلم، مادر مهربانم که زندگی‌ام را مدیون مهر و عطوفت آن عزیز می‌دانم.

تقدیم به همسرم، به‌پاس قدردانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از سلامت و امنیت و آرامش برایم فراهم آورده است.

تقدیم به برادر و خواهرانم، همراهان همیشگی و پشتوانه‌های زندگی‌ام.

تقدیم به فرزندان دلبندم محمد و مهدیه بهترین هدیه الهی در زندگی‌ام.

چکیده

آزمایش اول: هدف از انجام این مرحله از آزمایش بررسی اثر سطوح مختلف مخلوط امولسیفه شده اسانس‌های گیاهی بر عملکرد متابولیت‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار بود. در این آزمایش اول، تعداد ٤٠ رأس گوساله شیرخوار با میانگین وزن بدن ۳±٤۰/٤ کیلوگرم از سن ۷ روزگی در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ٤ تیمار و ۱۰ تکرار در هر تیمار استفاده شد. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) گروه شاهد، ۲)گوساله‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس بصورت امولسیون، ۳) گوساله‌های دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس بصورت امولسیون ، ٤) گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ مخلوط اسانس بصورت امولسیون. چهار گیاه دارویی ازجمله آویشن (*Thymus kotschyanus*)، اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*)، کبر (*Capparis spinosa*) و مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) برای تهیه اسانس‌های گیاهی استفاده شد. نتایج آزمایش نشان داد که تیمارهای آزمایشی اثری بر مصرف ماده خشک و ضریب تبدیل خوراک نداشت. افزایش وزن ۱-۱٤ روزگی و کل دوره تحت تأثیر قرار نگرفت ولی افزایش وزن ۱٤-۲۸ روزگی و ۲۸-٤۳ روزگی به‌طور خطی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی افزایش یافت (P<۰/۰۱). غلظت‌های خونی گلوکز، کلسترول و بتا هیدروکسی بوتیرات تحت اثر تغذیه مخلوط اسانس‌های گیاهی بکار رفته قرار نگرفت ولی غلظت تری گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای خون به ترتیب به‌طور خطی افزایش و کاهش یافت (P<۰/۰۵). همچنین تغذیه مخلوط اسانس گیاهی به شکل امولسیفیه شده موجب کاهش معنی‌دار غلظت‌های خونی آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در ۳۰ روزگی و گاماگلوتامیل ترانسفراز در ۱۵ و ۳۰ روزگی به‌طور خطی گردید (P<۰/۰۵). غلظت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ولی غلظت خونی مالون دی آلدهید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل خون با افزایش سطح اسانس به‌طور خطی به ترتیب کاهش و افزایش یافت (P<۰/۰۵). تغذیه مخلوط میسل شده اسانس گیاهی به‌طور خطی موجب کاهش دفع لاکتوباسیل‌ها و باکتری *E.Coli* در مدفوع شد (P<۰/۰۱). بر اساس نتایج، اثرات مثبت اسانس میسل شده بر بهبود رشد و سلامت گوساله‌های شیرخوار مشاهده شد و سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در روز بهترین نتیجه را موجب شد.

آزمایش دوم: بدین منظور، ۵۰ گوساله نر هلشتاین از روز حدود ۷ تولد (میانگین وزن بدن ۳/٦ ± ۳۹/٦ کیلوگرم) برای بررسی اثر تغذیه مخلوط اسانس گیاهی، ویتامین C و ویتامین E به شکل امولسیفه شده بر عملکرد متابولیتهای خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار انتخاب شدند. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) گروه شاهد (CON)، ۲) گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس در روز بصورت امولسیون ، ۳) گوساله‌های دریافت‌کننده ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در روز، ٤) گوساله‌های دریافت‌کننده ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز و ۵) گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس در روز بصورت امولسیون به همراه ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز. مصرف خوراک، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل تحت

تأثیر تیمارهای آزمایشی در این آزمایش قرار نگرفتند. غلظت گلوکز و آلبومین خون تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۱) به‌طوری‌که گوساله‌های دریافت‌کننده ویتامین E دارای سطح گلوکز بالاتری بودند. غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نیز به‌طور معنی‌داری در گوساله‌های دریافت‌کننده اسانس کمتر بود (P<۰/۰۱). بالاترین مقدار خونی بتاهیدروکسی بوتیرات در گوساله‌های دریافت‌کننده اسانس به همراه ویتامین E و C مشاهده گردید (P>۰/۰۵). سطح خونی آنزیم‌های کبدی شامل آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز و گاما گلوتامیل ترانسفراز در ۳۰ روزگی در اثر تیمارهای آزمایشی کاهش یافت (P<۰/۰۱). غلظت گلوتاتیون پراکسیداز در ۱۵و ۳۰ روزگی تحت اثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (P<۰/۰۱). پایین‌ترین غلظت مالون دی آلدهید و بالاترین وضعیت آنتی‌اکسیدانی خونی در گوساله‌های دریافت‌کننده هر سه مکمل اسانس گیاهی، ویتامین E و ویتامین C مشاهده گردید. بر اساس نتایج، استفاده از شکل میسل شده اسانس گیاهی، ویتامین C و ویتامین E در بهبود فراسنجه‌های خونی مرتبط با سلامت و وضعیت اکسیداسیونی مؤثر بودند.

کلمات کلیدی: اسانس گیاهی، امولسیون، گوساله شیرخوار، عملکرد، سلامت.

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۲

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- اسانس‌های گیاهی..... ۷
۱-۱-۱- محل تشکیل اسانس‌ها در گیاهان ۹
۱-۱-۲- روش‌های استخراج اسانس گیاهان..... ۱۰
۱-۱-۳- کاربرد اسانس‌های گیاهی در تغذیه دام ۱۲
۱-۱-٤- فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی..... ۱۳
۱-۱-۵- فعالیت ضدانگلی اسانس‌های گیاهی ۱۵
۱-۱-٦- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی ۱٦
۱-۱-۷- فعالیت تعدیل‌کنندگی ایمنی اسانس‌های گیاهی..... ۱۷
۱-۱-۸- اثرات ضدالتهابی اسانس‌های گیاهی ۱۸
۱-۱-۹- اثرات اسانس‌های گیاهی در نشخوارکنندگان..... ۱۹
۱-۱-۱۰- اثرات تغذیه اسانس‌های گیاهی در گوساله‌ها..... ۲۱
۱-۱-۱۱- مریم‌گلی ۲۵
۱-۱-۱۲- اسطوخودوس..... ۲۹
۱-۱-۱۳- آویشن..... ۳۲
۱-۱-۱٤- کبر ۳۵
۱-۲- ویتامین C و نقش آن در سلامت دام..... ۳۸
۱-۲-۱- ویتامین E و نقش آن در سلامت دام..... ٤۱

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مرحله اول تحقیق: تهیه و استخراج اسانس گیاهان دارویی و امولسیون کردن آن در آزمایشگاه ٤٤
۲-۲- مرحله دوم .....
۲-۲-۱- دام‌ها و جیره‌های آزمایشی ٤٦
۲-۲-۲- عملکرد ٤۹
۲-۲-۳- فراسنجه‌های خونی..... ٤۹

۲-۲-٤- بررسی میکروارگانیسم‌های مدفوع ۵۰
۲-۳- مرحله سوم ۵۰
۲-۳-۱- دام‌ها و جیره‌های آزمایشی ۵۰
۲-٤- تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها ۵۱

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- نتایج مرحله اول تحقیق
۳-۱-۱- اثر بر عملکرد ۵۳
۳-۱-۲- اثر بر متابولیت‌های خونی ۵۸
۳-۱-۳- اثر بر فراسنجه‌های ایمنی ٦۲
۳-۱-٤- اثر بر قابلیت هضم خوراک ٦۵
۳-۱-۵- اثر بر جمعیت باکتری‌های مدفوع ٦٦
۳-۲- مرحله دوم
۳-۲-۱- اثر بر عملکرد ٦۹
۳-۲-۲- اثر بر متابولیت‌های خونی ۷۱
۳-۲-۳- اثر بر آنزیم‌های خون و شاخص‌های اکسیداتیو ۷٤
۳-۲-٤- اثر بر فراسنجه‌های هماتولوژی ۷۸

فصل چهارم: نتیجه‌گیری

٤-۱- نتیجه‌گیری ۸۱

منابع و مأخذ ۸۲
چکیده انگلیسی ۱۰۱

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره استارتر ، یونجه و شیر (بر اساس ماده خشک).....٤٧
جدول ۳-۱- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر عملکرد گوساله‌های هلشتاین ٥٦
جدول ۳-۲- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلشتاین..... ٦١
جدول ۳-۳- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر فراسنجه‌های ایمنی گوساله‌های هلشتاین..... ٦٤
جدول ۳-٤- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر قابلیت هضم خوراک ٦٥
جدول ۳-٥ اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر جمعیت باکتری‌های E-coli و Lactobacillus مدفوع گوساله‌های هلشتاین.....٦٨
جدول ۳-٦- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E، ویتامین C و اسانس در عملکرد رشد ٦٩
جدول ۳-۷- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E، ویتامین C و اسانس گیاهی روی متابولیت‌های خون ٧٢
جدول ۳-۸- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر روی آنزیم‌های خون و شاخص‌های اکسیداتیو ٧٥
جدول ۳-۹- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر فراسنجه‌های هماتولوژی گوساله‌های هلشتاین ٧٨

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۲-۱- مسیرهای متابولیکی بیوسنتز ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی ۸
شکل ۲-۲- ترکیبات اسانس‌های گیاهی متعلق به خانواده ترپنوئیدها (A: مونوترپنوئیدها، B: سسکی ترپنوئیدها ۹
شکل۲-۳- گیاه مریم‌گلی ۲۵
شکل ۲-٤- گیاه اسطوخودوس ۳۰
شکل ۲-۵- گیاه آویشن ۳۳
شکل ۲-٦- گیاه کبر ۳٦
شکل ۳-۱- تصویر AFM از نمونه امولسیون آماده‌شده (پس از رقت ۲: ۱۰۰ v/v) ٤٦

مقدمه

مقدمه

شکمبه بدون شک مهم‌ترین اندام در سیستم هضم نشخوارکنندگان است. سنتز پروتئین میکروبی شکمبه و اسید چرب فرار) اسید چرب فرار (بیشتر پروتئین و انرژی موردنیاز نشخوارکنندگان را تأمین می‌کند. مشکلات عملکرد شکمبه می‌تواند باعث کاهش مصرف، هضم و سلامت نشخوارکنندگان شود و منجر به مرگ شود. علاوه بر این، عملکرد ناکارآمد شکمبه عملکرد و سلامت حیوانات را کاهش می‌دهد و به آلودگی محیط‌زیست کمک می‌کند. افزودنی‌های خوراکی معمولاً ترکیبات غیرمغذی یا مواد افزودنی هستند که به‌منظور بهبود استفاده از مواد مغذی در جیره غذایی، افزایش عملکرد، به حداقل رساندن خطر بیماری‌های متابولیکی و کاهش اثرات جیره غذایی بر محیط ، به جیره‌های غذایی افزوده می‌شوند. به‌طور خاص، مواد افزودنی خوراک ایدئال باید دارای ویژگی‌های زیر باشد: pH شکمبه را تعدیل کرده و تجمع لاکتات را کاهش دهد. خطر ابتلا به بیماری‌های متابولیک مانند اسهال در نوزادان و اسیدوز شکمبه یا نفخ در دام‌های مسن را کاهش دهید. توسعه شکمبه در نشخوارکنندگان نوزاد را افزایش دهید. با کاهش متانوژنز شکمبه و کاهش نسبت استات به پروپیونات بدون کاهش سنتز چربی شیر، بهره‌وری از مصرف انرژی شکمبه را بهبود بخشد. بهبود کارایی استفاده از نیتروژن شکمبه با (i) کاهش پروتئولیز، پپتیدولیز و دآمیناسیون اسیدآمینه، بنابراین تولید و تخلیه NH_3 به محیط‌زیست را به حداقل می‌رساند. (ii) مهار فعالیت تک‌یاخته‌های شکمبه‌ای که باکتری‌های مطلوب را بیگانه خوار یا ذره خواری می‌کنند، به پروتئولیز و دآمیناسیون کمک می‌کنند و به‌عنوان میزبان متانوژن‌ها عمل می‌کنند. (iii) افزایش سنتز پروتئین میکروبی با تسهیل اتصال (هم‌زمانی) انرژی شکمبه و تأمین پروتئین یا از طریق دیگر. مواد آلی شکمبه و قابلیت هضم فیبر را افزایش دهد. افزایش سطح و کارایی عملکرد حیوانات. مقرون‌به‌صرفه بوده و مورد تأیید مقامات قانون‌گذاری قرار گیرد.

بر همین اساس متخصصین تغذیه نشخوارکنندگان به دنبال استفاده از ترکیباتی هستند که با تغییر جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های شکمبه، بازدهی استفاده از انرژی و پروتئین خوراک را افزایش دهند. چنین هدفی با تنظیم جیره غذایی و استفاده از ترکیباتی چون آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد همانند یونوفرها تا حدود قابل‌توجهی حاصل‌شده است (فریدون پور و همکاران، ۱۳۹۵). اما در سال‌های اخیر نگرانی‌ها در رابطه با مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در تولیدات دامی افزایش‌یافته است، چراکه امکان مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها زیاد شده است. همچنین در رابطه با این موضوع اتحادیه اروپا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان افزودنی خوراکی در خوراک دام‌ها به دلیل باقی ماندن اثر آن‌ها در شیر و گوشت دام را ممنوع اعلام کرده است (بنچار و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین متخصصین به دنبال ترکیباتی جایگزین، با توانایی بهبود فرایند تخمیر می‌باشند. ازجمله این ترکیبات جایگزین می‌توان به پروبیوتیک‌ها و اسیدهای آلی و گیاهان دارویی اشاره کرد (کالسامیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷).

اسانس‌های گیاهی متابولیت‌های معطر، پیچیده، فرار و ثانویه هستند که با تقطیر از قسمت‌های مختلف گیاهان استخراج می‌شوند. ازنظر شیمیایی، روغن‌های واقعی نیستند، بلکه مخلوط‌های متغیری هستند که عمدتاً از ترپنوئیدها، عمدتاً مونترپن‌ها (C10)، سسکوئیترپن‌ها (C15) و سایر ترکیبات تشکیل‌شده‌اند. ترکیب اسانس‌های گیاهی با توجه به گونه، اندازه ذرات گیاهی، بلوغ و محیط گیاه متفاوت است. چندین اسانس گیاهی دارای خواص ضد میکروبی قوی در برابر میکروارگانیسم‌های مختلف هستند. بنابراین، آن‌ها به‌عنوان گزینه‌هایی برای داروهای آنتی‌بیوتیکی و مواد افزودنی در رژیم‌های غذایی انسان و دام ارزیابی شده‌اند. گیاهان دارویی و مواد مؤثره آن‌ها، خصوصیات ضد میکروبی داشته و موجب افزایش ترشحات هضمی، تنظیم گردش خون، ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم ایمنی و بهبود رشد می‌شوند (وکیلی و همکاران، ۲۰۰۳؛ والاس، ۲۰۰٤). همان‌طور که در پیش ذکر شد مواد مؤثره گیاهی در اسانس‌های آن‌ها یافت می‌شوند و شامل سه دسته ترکیب ترپن‌ها، ترپنوئیدها و فنیل پروپان‌ها بوده که این ترکیبات

جزو متابولیت‌های ثانویه محسوب می‌شوند. مواد مؤثره در تمام‌اندام گیاهی ازجمله برگ، چوب و پوست ساخته‌شده و در سلول‌های ترشحی، حفره‌ها، کانال‌ها و سلول‌های اپیدرمی ذخیره می‌شوند (لی و همکاران، ۲۰۰٤). ازجمله گیاهانی که دارای خواص داروئی بوده می‌توان آویشن، اسطوخودوس، کبر و مریم‌گلی را نام برد. نظریه‌های زیر برای توضیح عملکرد اسانس‌های گیاهی مطرح‌شده است. اولین نظریه این است که اسانس‌های گیاهی اهداف سلولی را بخصوص با تعامل با فرآیندهای مرتبط با غشای سلولی مانند شیب یونی، جابجایی پروتئین، فسفوریلاسیون، تولید ATP و غیره تعدیل می‌کنند. ماهیت آب‌گریز و لیپوفیلی اسانس‌های گیاهی به این اثر کمک می‌کند. نظریه بعدی بیان می‌کند که برخی مطالعات نشان داده‌اند که مانند مونسین، اسانس‌های گیاهی به‌طور انتخابی باکتری‌های گرم مثبت را مهار می‌کند. بااین‌حال ، بنچار و همکاران (۲۰۰۸) با استناد به مطالعات نشان می‌دهد که وزن مولکولی کوچک اسانس‌های گیاهی همچنین به آن‌ها امکان نفوذ در غشای سلول باکتری‌های گرم منفی را می‌دهد. به‌عنوان‌مثال، تیمول و کاراواکرول باکتری‌های گرم منفی را مهار کرده‌اند. با توجه به طیف گسترده‌ای از اسانس‌های گیاهی در طبیعت ، اثرات آن‌ها در تخمیر شکمبه متفاوت است. برخی از اسانس‌های گیاهی اثرات شبه مونسینی بر روی جمعیت باکتری‌های گرم مثبت و نسبت اسید چرب فرار شکمبه دارند، درحالی‌که برخی دیگر اثرات مهاری عمومی‌تری روی باکتری‌های شکمبه دارند به‌طوری‌که تولید کل اسید چرب فرار کاهش می‌یابد. این اختلافات تا حدودی نشان‌دهنده تغییرات در ساختار شیمیایی اسانس‌های گیاهی است. مونوترپن‌های اکسیژن‌دار فعالیت باکتریایی را به‌شدت مهار می‌کنند، درحالی‌که هیدروکربن‌های مونوترپن فعالیت باکتریایی را کمی مهار یا تحریک می‌کنند.

یکی از چالش‌های ارزیابی اسانس‌های گیاهی این است که میکروب‌ها می‌توانند با اسانس‌های گیاهی سازگار شوند، بنابراین آزمایش‌های کوتاه‌مدت آزمایشگاهی که در چندین مطالعه در مورد اسانس‌های گیاهی استفاده‌شده است ، ابزار ارزیابی نامناسب هستند. برخی از اسانس‌های گیاهی، به‌خصوص عصاره

سیر در کاهش تولید متان در شکمبه مؤثر است. کاهش تا ۷۰ درصد توسط روغن سیر یا دیالیل سولفید، یکی از اجزای اصلی آن گزارش‌شده است. این کاهش بیش از آن بود که با مونسین به دست آمد و آن‌ها به‌جای مهار پیش سازهای متان به مهار مستقیم پروسه‌های متان‌زایی نسبت داده شد. سایر اسانس‌های گیاهی مانند تیمول و عصاره گل میخک یا رازیانه نیز باعث کاهش تولید متان شده‌اند اما هضم یا غلظت پروپیونات را نیز کاهش داده‌اند.

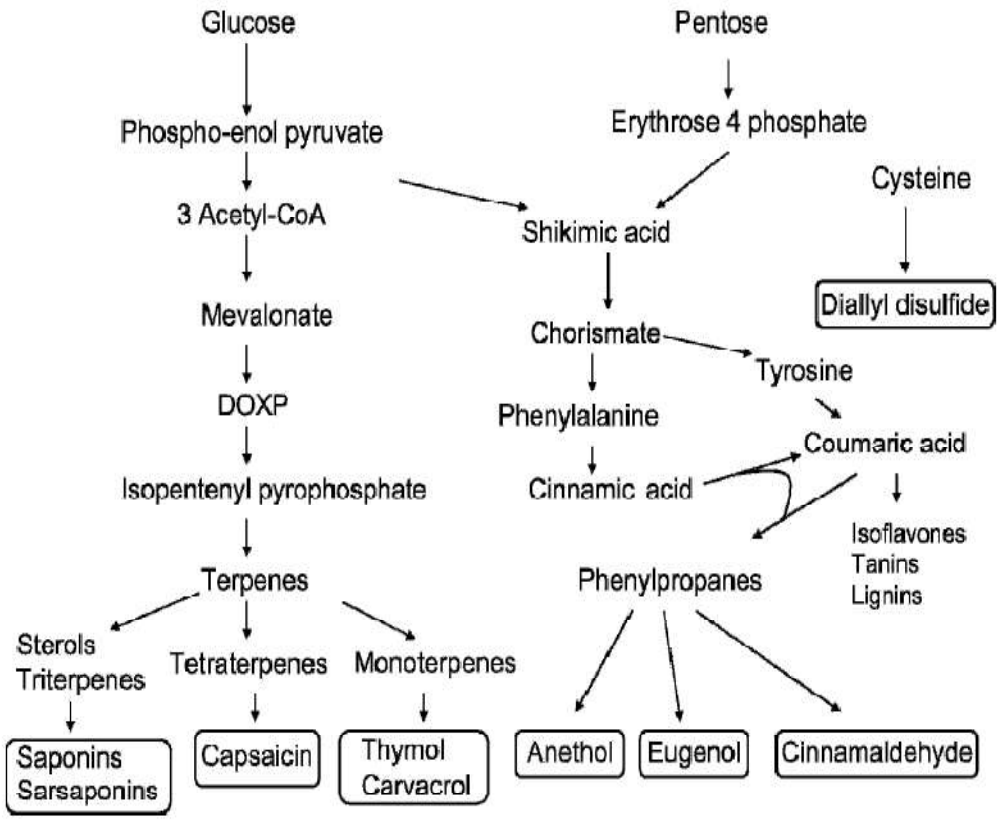
اسانس‌ها به‌سادگی استخراج می‌شوند، با محیط سازگار بوده و سریع تجزیه و کاتابولیزه می‌شوند و در خاک و آب دوام ندارند (اودیمی و همکاران، ۲۰۰۸). علیرغم موارد ذکرشده خاصیت فرار بودن، حلالیت پایین در آب، اکسیداسیون سریع، بی‌ثباتی شیمیایی اسانس‌های گیاهی در حضور نور، هوا، رطوبت و دمای بالا از معایب اسانس‌ها می‌باشند (پیلمور و همکاران، ۱۹۹۳). لذا ارائه فرمولاسیون جدید و ایجاد تغییراتی که بتواند با اعمال بر روی اسانس‌ها، کیفیت و میزان تأثیر آن‌ها را افزایش دهد، اهمیت خواهد داشت. یکی از این روش‌ها، استفاده از روش امولسیون سازی است. این روش ضمن امکان رهاسازی کنترل‌شده و مناسب، سبب حفاظت آن‌ها در محیط شده و موجب افزایش جذب و اثربخشی آن‌ها می‌شود (لایی و همکاران، ۲۰۰۶). بنابراین در این پژوهش ساخت امولسیون یک مخلوط گیاهان دارویی، اثرات آن بر عملکرد رشد، سیستم ایمنی و فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار مورد مطالعه قرار خواهد گرفت.

فصل یک: بررسی منابع

۱-۱- اسانس‌های گیاهی

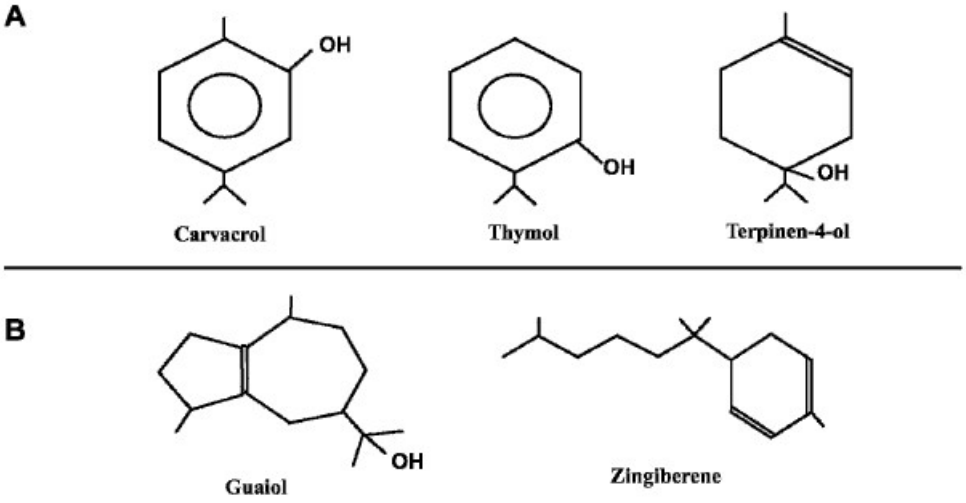
متابولیت‌های ثانویه گیاه به‌طورکلی در سه گروه ساپونین‌ها، تانن‌ها و اسانس‌های گیاهی طبقه‌بندی می‌شوند. روغن‌های اسانسی به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه گیاهی فاقد نقش مستقیم در رشد و نمو گیاه هستند (بالاندرین و کلوک، ۱۹۸۵). اغلب ترکیبات اسانس‌های گیاهی دارای ماهیت فرار هستند ازاین‌رو مسئول رایحه و بوی گیاهان و ادویه‌ها هستند. به‌علاوه، این ترکیبات دارای وظایف اکولوژیکی ارزشمندی برای گیاه هستند ازجمله به‌عنوان پیغام‌بر شیمیایی بین گیاه با محیط بوده و عمدتاً فعالیت ضدمیکروبی، ضد مخمر و ضد قارچی دارند (گرشنزون و گروتاو، ۱۹۹۱). این ترکیبات در قسمت‌های مختلف ازجمله گل، برگ، دانه، پوست، ساقه و حتی ریشه گیاه یافت شده و قابل‌استخراج هستند. نکته قابل‌توجه متغیر بودن ترکیبات اسانس در بخش‌های مختلف یک گیاه است (دورمان و دیانز، ۲۰۰۰). دلیل این تفاوت عوامل گوناگونی همچون مرحله رشد و وضعیت گیاه، عوامل محیطی مانند نور، حرارت، رطوبت می‌باشد (گرشنزن و همکاران، ۲۰۰۰). روغن‌های اسانسی از مدت‌ها به‌عنوان عطر، چاشنی غذا و نگهدارنده مصرف انسانی داشته‌اند (گوتییرز و همکاران، ۲۰۰۳).

اغلب ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی شامل دو گروه ترپنوئیدها (مونوترپنوئیدها و سسکی ترپنوئیدها) و پروپانوئیدها است. این دو گروه نیز از پیش‌سازهای مختلفی منشأ گرفته و در مسیرهای متابولیکی مختلفی سنتز می‌شوند (شکل۲-۱)



شکل ۱-۱- مسیرهای متابولیکی بیوسنتز ترکیبات فعال اسانس‌های گیاهی

ترپنوئیدها گروه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه بوده و حدود ۱۵۰۰۰ ترکیب گوناگون را شامل می‌شوند (گرشنزون و گرتاو، ۱۹۹۱). این گروه از متابولیت‌های ثانویه گیاهی از ساختارهای ۵ کربنه (C_5H_5) با نام ایزوپرن مشتق شده و بر اساس تعداد واحدهای کربنی ساختارشان دسته‌بندی می‌شوند. اسانس‌های گیاهی ترپنوئیدی عمدتاً متعلق به خانواده مونوترپنوئیدها و سسکی ترپنوئیدها هستند (شکل ۲-۲). ترپنوئیدها از استیل کوآنریم آ طی مسیر دزوکسی زایلولوز یا ملاوونات و فنیل پروپانوئیدها از فنیل آلانین طی مسیر شیکیمات مشتق می‌شوند و در ساختار آن‌ها نیتروژن وجود ندارد (آکامووییک و بروکر، ۲۰۰۵). گزارش‌شده است که بیش از ۱۰۰۰ مونوترپن و ۵۰ فنیل پروپانوئید در گیاهان وجود دارند (لی و همکاران، ۲۰۰٤).



شکل ۲-۲- ترکیبات اسانس‌های گیاهی متعلق به خانواده ترپنوئیدها (A: مونوترپنوئیدها، B: سسکی ترپنوئیدها.

اسانس‌های گیاهی با نام‌های روغن‌های فرار، روغن‌های اتری و اسانس‌های روغنی نیز شناخته می‌شوند (جایمند و رضایی، ۱۳۸۰). در بین تیره‌های گیاهی گوناگون تیره نعناعیان (Labiatae)، چتریان (Umbelliferae)، نارنج (Rulaceae)، کاج (Pinaceae)، کاسنی (Compositae)، مورد (Myrtaceae)، روزآسه (Rosaceae) و برگ بو (Lauraceae) مهمترین گروه‌های دارای اسانس هستند (آئینه‌چی، ۱۳٦۵).

۱-۱-۱- محل تشکیل اسانس‌ها در گیاهان

ترکیب و مقدار اسانس تولیدی یک گیاه به نوع اندام گیاهی و تیره گیاهی وابسته بوده و در اندام‌های گیاهی مختلف ترکیب و میزان متفاوتی از اسانس حاصل می‌شود (فیگوئیردو و همکاران، ۱۹۹۷). در ارتباط با اثر تیره گیاه بر محل تشکیل اسانس برای مثال در تیره نعناعیان اسانس گیاهی در تارهای ترشح‌کننده، چتریان در لوله‌های روغنی و در تیره کاج و نارنج در مجرای لیزیژن و شیروژن تشکیل می‌شود (جایمند و رضایی، ۱۳۸۰). ازنظر پراکندگی در گیاه گل سرخ اسانس در گلبرگ‌ها و میوه، در مخروطیان در تمام بافت‌های

گیاهی، در نعناعیان در تارهای ترشح‌کننده و برگ‌ها، در چتریان در پریکارپ و در نارنج‌ها در گلبرگ و میوه حضور دارد (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵).

۱-۱-۲- روش‌های استخراج اسانس گیاهان

مهم‌ترین مرحله جداسازی اسانس استخراج از بافت گیاهی است و روش استخراج به نوع و حالت گیاه، نوع ماده مؤثره، درجه خلوص و عوامل مرتبط با مراحل کار بستگی دارد (استاهل-بیسکاپ و سائز، ۲۰۰۲). معمول‌ترین روش شناخته شده برای استخراج اسانس روش تقطیر با آب و تقطیر با بخارآب است. در این خصوص دستگاه تقطیر گردشی کلونجر امروزه برای استخراج اسانس به کار می‌رود.

روش استفاده از تقطیر آب بیشتر برای گیاهان خشک به کار می‌رود و در آن اسانس‌های موجود در سلول-های دیواره گیاهی با عبور آب گرم از میان اجزا گیاهی و پاره شدن دیواره سلولی آزاد می‌شوند و با هدایت به سمت محفظه سرد به‌صورت تقطیرشده به دست می‌آیند (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵). روش اسانس گیری تقطیر با بخارآب برای هردوی گیاهان تازه و خشک به کار می‌رود. در این روش بخارآب از میان مواد گیاهی عبور کرده و در قسمت سردکننده دستگاه اسانس به همراه بخارآب تقطیرشده و جمع‌آوری می‌شود. این روش بیشتر در صنعت کاربرد دارد اما از ایرادات آن تجزیه برخی ترکیبات اسانس به دلیل حرارت بالا گزارش‌شده است (میرزا و همکاران، ۱۳۷۵). دیگر روش‌های غیرمتداول استخراج اسانس شامل استخراج با استفاده از سیال فوق بحرانی دی‌اکسید کربن، استخراج به‌وسیله حلال، استخراج به روش تقطیر ماکروویوی، روش تقطیر مقاومتی، روش اکوله و روش ترکیبی فراصوت و ماکروویو هست.

اسانس‌های گیاهی[1] یا روغن‌های فرار مایع تقطیری از اندام‌های گیاهی مانند گل‌ها، غنچه‌ها، دانه‌ها، برگ‌ها، سرشاخه‌ها، پوست، چوب، میوه و ریشه‌های گیاهی هستند (میگل، ۲۰۱۰). این ترکیبات عصاره‌های فرار

[1] Essential Oils

بخار یا حلال آلی (اتانول، متانول، تولوئن یا دیگر حلال‌های آلی) بوده و به‌صورت سنتی در کشورهای مختلفی در نقاط مختلف دنیا مورداستفاده قرارگرفته‌اند. اسانس‌های گیاهی طعم و بوی خوشایندی مانند خصوصیات نگهدارنده دارند. برخی از ترکیبات خاص روغن‌های اسانسی قابلیت استخراج از بخش‌های مختلف گیاه یا سنتتیک بودن را دارند. اسانس‌های گیاهی معمولاً مقادیر غنی از ترکیبات متفاوتی مانند ترپن‌ها، الکل‌ها، استون، فنول‌ها، اسیدها، آلدئیدها و استرها را دارند (نگی، ۲۰۱۲). این ترکیبات می‌توانند نقش محافظتی در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها یا حشرات را داشته باشند (برنس و رورا، ۲۰۱۰).

اسانس‌های گیاهی بر اساس خصوصیات آروماتیک مواد گیاهی که استخراج می‌شوند نام‌گذاری می‌گردند (اُین و دانگ، ۱۹۹۹). واژه ضروری از فرضیه "*quinta essential*" که اولین بار در قرن ۱۶ توسط هوهنهیم استفاده شد که باور داشت که این ترکیب عاملی مفید در آماده‌سازی طب است (اُین و دانگ، ۱۹۹۹). اصطلاح روغن ضروری می‌تواند اصطلاحی با تعریف ضعیف در نظر گرفته شود، فرآورده جانبی داروسازی قرون‌وسطایی، و به این دلیل واژه اسانس‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین پیشنهادشده‌اند (های و واترمن، ۱۹۹۳). بااین‌حال، واژه قدیمی روغن اسانسی بیشتر به کار می‌رود.

ترکیب جداگانه اسانس‌های گیاهی متغیر است. برای مثال، تفاوت زیادی در اسانس آویشن که از گونه *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* به‌وسیله تقصیر با بخار استخراج‌شده قابل‌شناسایی است، و از ۳۰ یا تعداد بیشتری ترکیب که اساساً ترکیبات فنولی با فعالیت‌های مختلف هستند تشکیل یافته است (جیاننا‌س و همکاران، ۲۰۱۳). ترکیبات اصلی کارواکرول و تیمول هستند که ۷۸/۸۲ درصد از کل اسانس را تشکیل می‌دهند (آدام و همکاران، ۱۹۹۸). دیگر ترکیبات اصلی نیز ازنظر غلظت متغیر هستند. به‌طور مشابه سینامالدئید از ترکیبات اصلی اسانس دارچین از ۶۰ تا ۷۵ درصد متغیر است (داک، ۱۹۸۶). ازاین‌رو، اثرات بیولوژیک اسانس‌های گیاهی مورداستفاده می‌تواند بسیار متغیر باشد.

خصوصیات دارویی گیاهان آروماتیک اساساً به مواد فنولی و پلی‌فنولی موجود در آن‌ها نسبت داده می‌شود. بیش از ۸۰۰۰ ترکیب پلی‌فنولی شناسایی‌شده‌اند که بیش از ۲۰۰۰ ترکیب در طبیعت یافت می‌شوند (ارزچفسکی و همکاران، ۲۰۰۲). ترکیبات پلی فنولی نقش محوری در گیاهان دارند چرا که برای رنگ-سازی، رشد، تولیدمثل، مقاومت در برابر پاتوژن‌ها و قارچ‌ها و دیگر عملکردهای گیاه موردنیاز هستند.

۱-۱-۳- کاربرد اسانس‌های گیاهی در تغذیه دام

اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها و اثرات آزمایشی آن‌ها به‌عنوان عوامل ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، تنظیم‌گر ایمنی و ضدالتهابی اثبات‌شده است. این ترکیبات جایگاهی مهم به‌عنوان افزودنی خوراکی ایمن دارند. داده‌های درون‌تنی در دسترس نشان داده که اسانس‌های گیاهی می‌توانند به‌عنوان محرک‌های رشد طبیعی در جیره دام مورداستفاده قرار گیرند. بااین‌وجود، مدارک موجود در ارتباط با اثرات مثبت ممکن این ترکیبات بر روی قابلیت هضم و عملکرد دستگاه گوارش نسبتاً محدود است. همچنین، اثرات سودمند به کار بردن اسانس‌های گیاهی در جیره دام به عوامل مختلفی بستگی دارد. این عوامل می‌توانند از یک‌سو ترکیبات متغیر و سطوح مختلف اضافه کردن آن‌ها در جیره و از طرف دیگر عوامل ژنتیکی متغیر دام باشد. درک بهتر از ترکیب و فعالیت جمعیت میکربی دستگاه گوارش برای افزایش استفاده از این اسانس‌های گیاهی و تولید فرآورده‌های سودمند لازم است.

در چند دهه گذشته صنعت جهانی پرورش دام رشد سریعی یافته و مقادیر قابل‌توجهی از زنجیره غذایی انسان را تأمین می‌کند. این صنعت قابلیت رشد بیشتر را دارد اما همچنان باید بر برخی از مشکلات مانند نیازهای محافظت سلامت، اثرات محیطی و بی‌ثباتی بازار غلبه کند. صنعت پرورش دام در حال حاضر با دو مشکل اساسی مواجه است: اول وقوع گسترده بیماری‌ها مانند بیماری‌های باکتریایی، قارچی و انگلی که منجر به تلفات سنگین می‌شوند و دوم بخش کشاورزی در سراسر جهان ازنظر تولید غذای سالم با حداقل

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها یا مواد با منشأ سنتتیک در خوراک دام و اثر کمتر بر آلودگی زیست‌محیطی به‌شدت تحت تأثیر فشار سیاسی و اجتماعی است (جیاننا‌س و همکاران، ۲۰۱۳). در سال‌های اخیر فرآورده‌های حاوی اسانس‌های گیاهی به‌عنوان افزودنی خوراکی برای تحریک عملکرد تولیدی دام مورداستفاده قرارگرفته‌اند. این ترکیبات مکانیسم عمل متفاوتی شامل بهبود مصرف و طعم خوراک، تحریک ترشح آنزیم‌های هضمی، افزایش حرکات معده و روده و فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضدویروسی، ضدانگلی، تنظیم‌کننده ایمنی و آنتی‌اکسیدانی دارند.

۱-۱-٤- فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی

خصوصیات ضدمیکروبی ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در اسانس‌های گیاهی نتیجه تنها یک نوع فعالیت این ترکیبات نیست بلکه اثرات تجمعی بر اهداف مختلف در قسمت‌های مختلف سلول است (برت، ۲۰۰٤). گزارش‌شده است که سودمندی این ترکیبات به pH، ساختار شیمیایی، غلظت یا ترکیبات زیست فعال به‌طور جداگانه، در کنار جمعیت و نوع میکروارگانیسم تحت تأثیر بستگی دارد (جیاننا‌س و همکاران، ۲۰۱۳). اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در pH پایین خوراک افزایش می‌یابد چرا که افزایش آب‌گریزی اسانس‌های گیاهی آن‌ها را قادر به حل آسان‌تر در غشای سلولی باکتری می‌کند (برت، ۲۰۰٤). مکانیسم دیگر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی مانند تیمول، اوژنول و کارواکرول تخریب دیواره سلولی، محدود کردن فعالیت ATPase و آزادسازی ATP درون‌سلولی و دیگر اجزای درون‌سلولی میکروبی است (لامبرت و همکاران، ۲۰۰۱؛ گیل و هالی، ۲۰۰٦؛ اوسالا و همکاران، ۲۰۰٦). این ترکیبات وارد لایه فسفولیپیدی شده و درون زنجیر اسیدهای چرب جای می‌گیرند که منجر به نفوذپذیر شدن غشای سلولی می‌شود (اُلتی و همکاران، ۲۰۰۰). این تغییرات موجب انبساط و ناپایداری غشای سلول و افزایش سیالیت غشا و افزایش نفوذپذیری آن می‌گردد (اُلتی و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این، تیمول به پروتئین‌های غشای

سلولی متصل شده و نفوذپذیری آن را تغییر می‌دهد (خوئن و همکاران، ۱۹۹٤). اوسالا و همکاران (۲۰۰٦) و گیل و هالی (۲۰۰٤) گزارش نمودند که سینامالدئید قادر به کاهش ATP درون سلولی و فعالیت ATPase بدون ایجاد تغییر در غشای سلولی *E.coli* 0157:H7 و *L. monocytogenes* است.

ترکیبات فنولی، به‌عنوان بخشی از اسانس‌های گیاهی، اثرات ضدمیکروبی گسترده‌ای در بین ترکیبات ثانویه گیاهی موجود در بسیاری از اسانس گیاهی دارند. این ترکیبات غشای سلولی میکروارگانیسم را تحت تأثیر قرار می‌دهند (بلتریم و همکاران، ۱۹۸۸). فنول‌ها عملکرد غشای سلولی را از طریق اثر بر پروتئین و لیپیدهای آن تغییر می‌دهند و منجر به خروج یون‌های پتاسیم درون سلول می‌شوند (کولوه و همکاران، ۱۹۹۰؛ هیپایپر و همکاران ۱۹۹۱). علاوه بر این گزارش‌شده که کاتچین یکپارچگی غشای سلولی را تخریب همچنین موجب نشت از لیپوزوم می‌شوند (ایکیگای وهمکاران، ۱۹۹۳). کاتچین و اپی‌گالوکاتچین گالات نقطه قطبی خارجی دولایه لیپیدی لیپوزوم را تحت تأثیر قرار داده و غشا را تخریب می‌کنند (هاشیموتو و همکاران، ۱۹۹۹). نشان داده‌شده که وانیلین اثرات ضدمیکروبی مشابهی داشته و تنفس سلولی در چندین باکتری حساس را محدود کرده است. ترپن‌ها نیز وارد غشای سلولی شده و موجب از دست رفتن عملکرد غشای سلولی ، تغییر عملکرد ساختارهای لیپیدی می‌شوند (جیاناناس و همکاران، ۲۰۱۳).

فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی در بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی نیز موردبررسی قرارگرفته و فعالیت بالای ضدمیکروبی این ترکیبات گزارش گردیده است. باور کلی وجود دارد اسانس‌های گیاهی در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی‌ها مؤثرترند (برت، ۲۰۰٤). این حقیقت که باکتری‌های گرم منفی در برابر اثرات ضدمیکروبی اسانس مقاوم‌ترند منطقی است چرا که این گروه غشای خارجی داند که دیواره سلولی را احاطه می‌کند و عبور ترکیبات آب‌گریز از طریق لیپوپلی ساکاریدهای پوششی را محدود می‌کند (راتلج و ویلکینسون، ۱۹۸۸). بااین‌حال، برخی محققین گزارش کرده‌اند که باکتری‌های گرم منفی می‌توانند نسبت به اسانس‌های گیاهی حساس‌تر باشند. در مقایسه‌ای بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی،

تفاوت معنی‌داری بعد از ٢٤ ساعت مشاهده نشد اما محدودیت رشد در گرم منفی‌ها تا ٤٨ ساعت ادامه داشت (اُآتارا و همکاران، ١٩٩٧). طی پژوهشی ٥٠ اسانس گیاهی تجاری در برابر ٢٥ سویه باکتریایی موردبررسی قرار گرفتند و تفاوتی ازنظر حساسی بین باکتری‌های گرم مثبت و منفی مشاهده نشد (دینز و ریچی، ١٩٨٧) اما در مطالعه بعدی از اسانس تازه استفاده شد و نتایج نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت در برابر دو اسانس حساس‌تر و برای ٤ اسانس به میزان برابری در مقایسه با گرم منفی‌ها حساسیت نشان دادند (دورمن و دینز، ٢٠٠٠). سودمندی ضدمیکروبی اسانس‌ها به غلظت آن‌ها بستگی داشته و همچنین به‌وسیله دمای بهینه نگهداری آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. مشاهده‌شده است که فعالیت ضد میکروبی اسانس یا ترکیبات اسانس گیاهی در برابر *E.coli* O157:H7 و سالمونلا انتریکا در آب سیب در دمای ٣٧ درجه سلسیوس بهتر از ٤ یا ٢١ درجه سلسیوس بود (فریدمن و همکاران، ٢٠٠٤).

١-١-٥- فعالیت ضدانگلی اسانس‌های گیاهی

اسانس‌های گیاهی قابلیت استفاده به‌عنوان عامل کنترل عفونت‌های انگلی در سیستم‌های کشاورزی را دارند (آتاناسیادو و کریازاکیس، ٢٠٠٤). چندین گیاه و اسانس آن‌ها گزارش‌شده که خصوصیات ضدانگلی دارند. اسانس‌های گیاهی قرن‌ها برای درمان عفونت‌های انگلی استفاده‌شده‌اند. برای مثال اسانس و بذر سیر (*Allium sativum*)، پیاز (*Allium capa*)، نعناع (*Mentha* spp.) در مقابل انگل‌های گوارشی مؤثر نشان داده‌شده‌اند و عصاره گیاه توتون (*Nicotina tabacum*) در درمان بیماری‌های جلدی مورداستفاده قرارگرفته‌اند (جیاننا‌س و همکاران، ٢٠١٣). علاوه بر این، قسمت‌های مختلف گیاه *Chenopodium ambrosiosdes* از قرن ١٩٠٠ به دلیل اثرات ضدانگلی مورداستفاده قرارگرفته‌اند (گواررا، ١٩٩٩).

در صنعت طیور عفونت‌های کوکسیدیال ممکن است به اشکال بالینی حاد یا تحت بالینی مشاهده شوند. کارواکرول و تیمول موجود در عصاره آویشن اثرات ضدکوکسیدیایی در برابر ایمریا تنلا (*Eimeria*

tenella) دارند (جیاننا‌س و همکاران، ۲۰۰۳). استفاده از اسانس‌های گیاهی به‌عنوان عامل ضدانگلی کاملاً مؤثر نشان داده‌شده‌اند ولی تحقیقات بیشتر برای استفاده استاندارد بدون اثرات منفی بر سلامت و عملکرد دام نیاز است.

۱-۱-٦- فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی

امروزه یکی از زمینه‌های تحقیقاتی، کنترل آسیب‌های زیستی ایجادشده توسط رادیکال‌های آزاد است. آنتی-اکسیدان‌های طبیعی اثرات سلامت افزایی در مقابل استرس اکسیداتیو در دام‌ها داشته و با ممانعت از فساد اکسیداتیو که منجر به فساد مواد غذایی می‌شود در صنایع غذایی کاربرد دارند (جیاننا‌س وهمکاران، ۲۰۱۳). مکانیسم آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های گیاهی بر اساس توانایی آن‌ها در دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد و نیز توانایی جابجا کردن الکترون جفت نشده درون ساختار آروماتیک است (فرناندز-پانچون و همکاران، ۲۰۰۸). ترکیبات فنولی به‌عنوان مواد آنتی‌اکسیدانی در شرایط برون تنی موردمطالعه قرارگرفته‌اند و گزارش گردیده است که آن‌ها قابلیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به ویتامین E، C و کاروتنوئیدها دارند (رایس-اوانز و همکاران، ۱۹۹۷). اثرات محافظتی میوه و سبزی‌های مصرفی در برابر بیماری‌های مزمن تا حدودی به فنول‌ها و دیگر ترکیبات اسانس گیاهی مربوط است (اسکالبرت و همکاران، ۲۰۰۵). فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاوونوئیدها (از ترکیبات فنولی) به تعداد و موقعیت گروه هیدروکسیل آن‌ها بستگی دارد (سانگ و همکاران، ۲۰۰۲). ثبات اکسیداتیو گوشت مرغ و بوقلمون موردمطالعه قرارگرفته و دراین‌ارتباط اسانس آویشن به‌عنوان گیاه آروماتیک به‌خوبی موردبررسی قرارگرفته است. جیره بوقلمون با ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس آویشن به‌طور معنی‌داری پراکسیداسیون گوشت پخته و تازه طی نگهداری در یخچال را کاهش داد؛ افزون بر این، اسانس آویشن کیفیت گوشت جوجه در شرایط انجماد را حفظ کرد (بوتسوقلو و همکاران، ۲۰۰۳). فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاهان مختلفی مانند رزماری (*Rosmarinus officinalis*)،

اسطوخودوس (*Lavandula spp*)، اکالیپتوس (*Eucalyptus oblique*)، میخک (*Syzygium aromaticum*)، *Lippia berlandieri*، مرزه (*Origanum glandulosum*) و *Origanum vulgare* نشان داده‌شده است (لی و شیبامو‌تو، ۲۰۰۱، ۲۰۰۲؛ بوتسوقلو و همکاران، ۲۰۰٤؛جیروو‌تز و همکاران، ۲۰۰٦؛ روکا-گوزمان و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعه دیگری وی و شیبامو‌تو (۲۰۰۷) اسانس حاصل از دانه سنبل ختابی (*Angelica archangelica*)، دانه کرفس (*Apium graveolens*)، بابونه (*Anthemis nobilis*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*)، یاسمن (*Jasminum officinale*)، توت (*Juniperus communis*)، اسطوخودوس (*Lavendula officinalis*)، بذر جعفری (*Petroselinum sativum*)، نعناع هندی (*Pogostemon patchouli*)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita*)، رز (*Rosa damascene*)، چوب صندل (*Santalum Album*)، آویشن (*Thymus vulgaris*) و درخت ایلنگ (*Cananga odorata*) را برای محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو موردمطالعه قرار داده و عنوان کردند که اسانس حاصل از آویشن و میخک دارای بیشتری و مؤثرترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی بودند.

۱-۱-۷- فعالیت تعدیل‌کنندگی ایمنی اسانس‌های گیاهی

پتانسیل تعدیل‌کنندگی ایمنی انواع مختلف اسانس گیاهی برای مثال اسانس به‌دست‌آمده از سیر و آویشن توسط تعدادی از محققین به‌طور خاصی در موردبررسی قرارگرفته است. برای مثال زیگتی و همکاران (۱۹۹۸) عنوان کردند که افزودن یک افزودنی خوراکی حاوی سیر در جیره جوجه‌های گوشتی تولید آنتی‌بادی دو برابر *Salmonella enteritidis*، *Pasteurella multocida* و *Leptospira Pomona.* را افزایش داد. احسن الحق و همکاران (۱۹۹۹) گزارش نمودند که افزودن ۲۰ گرم سیر در کیلوگرم خوراک به‌طور معنی‌داری تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل و بیماری عفونی بورس فابریسیوس را در جوجه‌های گوشتی افزایش داد. جعفری و همکاران (۲۰۰۸) نیز طی تحقیقات خود مشاهده نمودند

واردکردن سیر (۳-۱ ٪) در جیره جوجه‌های گوشتی اثرات سودمندی بر تولید آنتی‌بادی داشت. هانیه و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند ۱۰ گرم سیر در کیلوگرم جیره تیتر آنتی‌بادی در برابر ویروس بیماری نیوکاسل و گلبول قرمز گوسفندی را بهبود بخشید. این محققین دلیل اثرات سودمند سیر و یا اسانس آن در تعدیل سیستم ایمنی نتیجه‌ی توانایی ترکیبات این گیاه در بهبود فاگوسیتوز ماکروفاژهای، افزایش تولید اینترلوکین‌ها، اینترفرون (INF-γ) و عامل نکروز تومور (TNF-α)، متابولیسم ترشحی ماکروفاژها، سلول‌های تولیدکننده آنتی‌ژن و عملکرد آنتی‌اکسیدانی عنوان کردند. اثرات تعدیل‌کننده ایمنی اسانس‌های گیاهی مختلف در مدل‌های حیوانی مختلف باید در هردوی دام‌های سالم و درگیر بیماری موردمطالعه بیشتر قرار گیرد.

۱-۱-۸- اثرات ضدالتهابی اسانس‌های گیاهی

اسانس‌های گیاهی دربرگیرنده ترکیبات فنولی به دارا بودن اثرات ضدالتهابی قوی شناخته‌شده‌اند. مطالعات روی موش‌ها با استفاده از عصاره زردچوبه (curcuma)، فلفل قرمز، فلفل سیاه، زیره سبز، شبدرها، جوزهندی، دارچین، نعناع و زنجبیل اثرات ضدالتهابی آن‌ها را نشان داده است (منجوناثا و سرینیواسان، ۲۰۰۶). اصلی‌ترین اسانس‌های گیاهی با قابلیت ضدالتهابی ترپنوئیدها و فلاوونوئیدها هستند (جیاناس و همکاران، ۲۰۱۳). این ترکیبات متابولیسم پروستاگلاندین‌های التهاب‌زا را کاهش می‌دهند. بابونه، گل همیشه بهار، شیرین بیان و رازیانه برخی از گیاهان دارای اثرات ضد التهابی هستند (کرایگ، ۲۰۰۱). اسانس بابونه، کرفس، ارس و گشنیز به دلیل دارا بودن خواص ضدالتهابی و دیگر اثرات سلامت افزا مورداستفاده قرار می‌گیرند (پنا و همکاران، ۲۰۰۱). گزارش‌شده گلیکوزیدهای فلاوون/فلاوونول و اگلیکون‌های فلاوونوئیدی اثرات ضدالتهابی قابل‌توجهی در دام‌های با التهاب مزمن و بالینی را بعد از مصرف دهانی یا موضعی نشان داده‌اند (تاپاس و همکاران، ۲۰۰۸). هسپریدین، فلاوونوئید موجود در مرکبات اثرات قابل‌توجه ضدالتهابی و

دردکشی دارد (شاهید و همکاران، ۱۹۹۸). به‌طور مشابهی اثرات ضدالتهابی آپیژنین، لوتئولین و کوئرسین نیز توسط فورمیکا و همکاران (۱۹۹۵) گزارش گردیده است. فلاوونوئیدها قادر هستند متابولیسم آراشیدونیک اسید را از طریق محدود کردن فعالیت آنزیم‌های سیکلوکسیژناز و لیپوکسیژناز تعدیل کنند. به‌علاوه پیشنهادشده است که خصوصیات ضدالتهابی و ضد حساسیت فلاوونوئیدها درنتیجه فعالیت ممانعتی آن‌ها بر متابولیسم آراشیدونیک اسید است (فرناندز و آلکاراز، ۱۹۹۱).

شن و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که آویشن می‌تواند منبعی غنی از ترکیبات ضدالتهابی بالقوه باشد. این محققین گونه‌های مختلف آویشن را مورد آزمایش قراردادند و نشان دادند که این گیاه اثرات ضدالتهابی را در هردوی شرایط درون و برون تنی از خود نشان داده و عامل ضدالتهابی آن را رزماریک اسید، اولئانولیک اسید و اوسولیک اسید شناسایی کردند. این محققین نتیجه‌گیری کردند که رزماریک اسید، اولئانولیک اسید و اوسولیک اسید متابولیت‌های غیرفرار اصلی یافت شده در خانواده اوریگانوم *Origanum* spp. ترکیباتی با خواص ضدالتهابی قوی هستند.

تا به امروز، اثرات ضدالتهابی اسانس‌های مختلفی به‌طور گسترده مورد آزمایش قرارگرفته است. آزمایش‌های بیشتر با مدل‌های حیوانی مختلف در هردو دام سالم و بیمار برای تعیین مکانیسم ضدالتهابی و مؤثر بودن این ترکیبات به‌تنهایی یا در ترکیب با دیگر داروها موردنیاز است.

۱-۱-۹- اثرات اسانس‌های گیاهی در نشخوارکنندگان

در طی سال‌های گذشته‌نگرانی عمومی درباره استفاده از مواد دارویی در نشخوارکنندگان به دلیل احتمال پیدایش باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و انتقال آن‌ها از دام به انسان، افزایش‌یافته است. متخصصین میکروبیولوژی و تغذیه نشخوارکنندگان به دنبال یافتن روش‌های جایگزین مطلوب برای تغییر متابولیسم شکمبه در جهت بهبود بازدهی خوراک و سودمندی دام هستند (بنچار و همکاران، ۲۰۰۹). اسانس‌های

گیاهی دارای خصوصیات ضدمیکروبی هستند که این ترکیبات را جایگزین‌های بالقوه‌ای برای آنتی‌بیوتیک-ها در دست‌کاری فعالیت میکروبی شکمبه کرده است. در طی چند سال گذشته، تعدادی از مطالعات اثرات اسانس‌های گیاهی و ترکیبات فعال آن‌ها بر تخمیر میکروبی شکمبه را مورد آزمایش قرار داده‌اند (بنچار و همکاران، ۲۰۰۸، ۲۰۰۹). بااین‌حال، بسیاری از این آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاهی و ماهیت کوتاه‌مدت دارند. بااین‌وجود، نتایج مطالعات محیط کشت برون‌تنی مدارکی فراهم کرده که اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن‌ها به‌صورت جداگانه پتانسیل بهبود مصرف نیتروژن و انرژی در نشخوارکنندگان را دارند. اثرات اسانس‌های گیاهی بر متابولیسم نیتروژن بیشتر به نظر می‌رسد از طریق اثر بر باکتری‌های زیاد تولیدکننده آمونیاک (HPA[1]) میانجی‌گری شده و منجر به کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه و تولید نیتروژن آمونیاکی گردد. بااین‌وجود، این پاسخ‌ها تنها با غلظت‌های بالای اسانس گیاهی که قادر است فرآیند تخمیر شکمبه‌ای و تولید اسیدهای چرب فرار را کاهش دهد، مشاهده‌شده‌اند. اثرات اسانس‌های گیاهی بر تولید متان متغیر هستند اما تا امروز مدارکی وجود دارد که توانایی انتخاب اسانس گیاهی یا ترکیبات فعال که به‌طور انتخابی متانوژن‌های شکمبه را محدود می‌کنند، نشان می‌دهد (بنچار و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج مطالعات با محیط کشت پیشنهاد کرد که جمعیت میکروبی شکمبه ممکن است به اسانس‌های گیاهی سازگاری یابند که می-تواند نبود اثرات اسانس‌های گیاهی بر متابولیسم شکمبه و عملکرد دام در مطالعات طولانی‌مدت درون تنی را توضیح دهد. چندین مطالعه فعالیت تعدادی از اسانس‌های گیاهی را علیه پاتوژن‌های غذایی آزمایش کرده‌اند.

استفاده از اسانس‌های روغنی در تغذیه گوساله‌های شیرخوار فعالیت باکتری‌کشی بالایی علیه باکتری‌های بیماری‌زایی مانند اشریشیا کلی O157:H7 و سویه‌های سالمونلا نشان داد (اُسالا و همکاران،۲۰۰۶، ۲۰۰۷). اسانس‌های گیاهی ممکن است به‌عنوان افزودنی به‌منظور بهبود بازدهی خوراک و حفظ سلامت حیوان

[1]hyper-ammonia producing

مورداستفاده قرار گیرند (جیاننا‌س و همکاران، ۲۰۱۳). بااین‌وجود، شناسایی اسانس‌های گیاهی یا ترکیبات فعال آن‌ها که به‌طور مطلوبی تخمیر شکمبه‌ای را بدون اینکه موجب مهار گسترده تخمیر شوند، همچنان چالش اصلی برای محققین و متخصصین تغذیه نشخوارکنندگان است.

مدارک دال بر فعالیت ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهان آروماتیک در نشخوارکنندگان هنوز به اثبات نرسیده اگرچه اسانس‌ها برای دست‌کاری متابولیسم شکمبه به‌منظور بهبود باردهی خوراک و سودمندی دام مورداستفاده قرارگرفته‌اند (بنچار و همکاران، ۲۰۰۹). بااین‌حال، نتایج به‌دست‌آمده از مطالعات آزمایشگاهی مدارکی فراهم کرد که اسانس‌های گیاهی یا ترکیبات آن‌ها پتانسیل بهبود مصرف نیتروژن و انرژی در نشخوارکنندگان را از طریق تغییر جمعیت میکروبی دارند. این پاسخ‌ها تنها در دزهای بالای اسانس مشاهده‌شده که می‌تواند زنده‌مانی انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌هایی که از طریق احیا برای تولید اسیدهای چرب فرار در تخمیر مشارکت می‌کنند محدود نماید. البته جمعیت میکروبی شکمبه بعد از مدت‌زمان زیاد مواجه با این مواد نسبت به آن‌ها سازگاری یابند (بنچار و همکاران، ۲۰۰۸). این امر موجب متعادل شدن اثرات آن‌ها می‌شود. اسانس‌های گیاهی فعالیت قوی ضد باکتریایی در برابر اشریشیاکلی و سالمونلا دارند که موجب تشویق محققین علوم دامی برای بررسی توانایی آن‌ها در کاهش متانوژن‌های شکمبه (محمد و همکاران، ۲۰۰٤) درنتیجه کاهش گاز تولیدی شود که اثرات گلخانه‌ای شدیدی دارد، شده است.

۱-۱-۱۰- اثرات تغذیه اسانس‌های گیاهی در گوساله‌ها

گوساله‌های تازه متولدشده با پاتوژن‌های متعددی که موجب مشکلات گوارشی و تنفسی و درنتیجه متوسط مرگ‌ومیر ۷/۸ ٪ می‌شوند مواجه هستند (NAHMS-USDA، ۲۰۰۷). آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند مرگ‌ومیر را کاهش دهند و مصرف بالاتر خوراک و افزایش وزن را به دنبال داشته باشند (موریل و همکاران، ۱۹۷۷)، اما اداره خوراک و داروی ایالات‌متحده استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها را به دلیل مقاومت آنتی‌بیوتیکی محدود کرده

است (سیمونز و بایواتر، ۱۹۹۱) علاوه بر این در اتحادیه اروپا نیز به دلیل ایجاد مقاومت باکتریایی و نگرانی‌های امنیت غذایی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها ممنوع شده است. درنتیجه، جایگزین‌های آنتی‌بیوتیک‌ها برای حفظ تولید بهینه دام، حفظ سلامت و رفاه دام، کاهش خطرات محیطی و اطمینان از امنیت غذایی موردنیاز هستند (سانتوس و همکاران، ۲۰۱۵). یکی از گزینه‌های جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها عصاره متابولیت-های گیاهی باشد که تحت عنوان اسانس‌های گیاهی شناخته می‌شوند که باکتری‌های گرم مثبت را بیشتر از باکتری‌های گرم منفی تحت تأثیر قرار داده و از رشد و فعالیت آن‌ها ممانعت می‌کنند (کالسامیگلیا و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعات نشان داده‌اند که متابولیت‌های ثانویه گیاهی جایگزین‌هایی برای تعدیل تخمیر شکمبه‌ای، کنترل میکروارگانیسم‌های حاضر در روده کوچک و بهبود عملکرد دام هستند (بامپیدیس و همکاران، ۲۰۰٦؛ چستر–جونز و همکاران، ۲۰۱۰). بزرگ‌ترین مشکل سیستم پرورش گوساله‌های شیری وقوع اسهال و درنتیجه مرگ‌ومیر بالا و عملکرد ضعیف این دام‌هاست. بنابراین، کاهش میکروارگانیسم‌های پاتوژن روده‌ای می‌تواند سلامت، رفاه و عملکرد دام را بهبود بخشد (سانتوس و همکاران، ۲۰۱۵). گزارش‌شده که اسانس‌های گیاهی قادر به تعدیل میکروارگانیسم‌های مسئول اسهال در گوساله‌ها هستند (مانزانیلا و همکاران، ۲۰۰٤). در بین اثرات مشاهده‌شده برای دام‌های مکمل شده با اسانس علاوه بر اثر هضم و بازدهی خوراک، حفظ میکروفلور مفید روده و ممانعت از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در مطالعات گزارش‌شده‌اند (دورمیک و بلیچ، ۲۰۱۲). بامپیدیس و همکاران (۲۰۰٦) گزارش نمودند که آویشن همچون آنتی‌بیوتیک نئومایسین در پیشگیری از بیماری‌های گوساله مؤثر بوده است. هیل و همکاران (۲۰۰۷) گزارش نمودند که تغذیه اسانس گیاهی مصرف خوراک استارتر، بازدهی خوراک و افزایش وزن گوساله‌ها را بهبود بخشید و سانتوس و همکاران (۲۰۱۵) جمعیت بیشتر باکتری‌های سودمند در فلور روده گوساله‌های تغذیه‌شده با جیره حاوی اسانس گیاهی را گزارش نمودند. علاوه بر این اسانس‌های گیاهی به علت اثر بر جمعیت میکروارگانیسم‌ها و تغییرات بعدی در پروفیل تخمیر شکمبه می‌توانند بر توسعه شکمبه

تأثیرگذار باشند (سانتوس و همکاران، ۲۰۱۵). بااین‌وجود، تغییرات اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بسته به دز و نوع اسانس مورد ارزیابی در دسترس است (کاستیلجوس و همکاران، ۲۰۰۷). به‌عبارت‌دیگر، غلظت نیتروژن آمونیاکی در پاسخ به مکمل‌سازی اسانس‌های گیاهی کاهش یافت (جیانیناس و همکاران، ۲۰۱۱). تغییرات اسیدهای چرب فرار شکمبه و نیتروژن آمونیاکی نتیجه تعدیل در جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه است. میگوئل و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند اسانس‌های گیاهی دارای فعالیت ضد باکتریایی، ضدویروسی، ضد قارچی، حشره کشی و گیاه‌کشی از طریق ایجاد تغییرات ساختاری در غشای سلول برای کاهش ناتراوایی غشا هستند.

در مطالعه فروهلیچ و همکاران (۲۰۱۷) اثرات تغذیه اسانس گیاهی و پری‌بیوتیک به گوساله‌های تازه متولدشده مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مطالعه مخلوطی از اسانس‌های گیاهی محتوی کارواکرول، کاریوفیلن، پی–سایمن، سینئول، ترپینن و تیمول به همراه پری‌بیوتیک آرابینوگالاکتان بررسی شدند. هدف پژوهش تعیین مقدار بهینه اسانس برای افزودن در جایگزین شیر در مقایسه با گروه شاهد یا پری بیوتیک بود. نتایج نشان داد گوساله‌های تغذیه‌شده با سطح ۱/۲۵ گرم روزانه اسانس افزایش وزن روزانه، افزایش وزن کل بدن، افزایش طول و ارتفاع بدن و افزایش ارتفاع استخوان هیپ بیشتری داشتند. این محققین نتیجه‌گیری نمودند این سطح از اسانس به ازای هر رأس مقدار بهینه برای بهبود نرخ رشد گوساله‌ها در مقایسه با دیگر سطوح اسانس و پری‌بیوتیک بود.

سلطان و همکاران (۲۰۰۹) اثرات مکمل‌سازی اسانس‌های گیاهی بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، فراسنجه‌های خونی و شرایط سلامت گوساله‌های نر هلشتاین در طی دوران قبل و بعد از شیرگیری موردمطالعه قراردادند. در این پژوهش مخلوطی از اسانس اکالیپتوس و منتول نعناع در سطوح مختلف به مدت ۸ هفته در جایگزین شیر و ١٦ هفته آتی در آب نوشیدنی مکمل‌سازی شد. گوساله‌های دریافت‌کننده اسانس در دوره پیش از شیرگیری مصرف کنسانتره کمتری در مقایسه با گروه شاهد داشتند. در این مطالعه

استفاده از اسانس‌های گیاهی در کنار کاهش مصرف ماده خشک بازدهی غذایی، قابلیت مواد مغذی و غلظت پروتئین کل و آلبومین خون را افزایش داد. علاوه بر این، مکمل‌سازی اسانس گیاهی وقوع اسهال و متوسط روزهای در اسهال را کاهش و اسکور سلامت عمومی گوساله‌ها در مقایسه با گروه شاهد را بهبود بخشید. اگرچه استفاده از سطوح بالای اسانس اثرات بدی رو سلامت گوساله‌ها داشت اما نتیجه‌گیری شد که مکمل اسانس گیاهی نیاز به آنتی‌بیوتیک برای بیماری‌های گوارشی و تنفسی را کاهش داد. در دوره بعد از شیرگیری نیز مشاهده شد گوساله‌های مکمل شده با سطح ۱۵/٦ میلی‌گرم اسانس در هر لیتر آب افزایش وزن روزانه بهبود یافت، مصرف خوراک افزایش و بازدهی خوراک در مقایسه با گروه شاهد افزایش یافت. برخلاف مطالعه سلطان و همکاران (۲۰۰۹)، وکیلی و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثرات اسانس‌های گیاهی تیمول و سینامون بر عملکرد، تخمیر شکمبه و متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلشتاین مصرف‌کننده جیره با کنسانتره بالا گزارش نمودند که مکمل‌سازی تیمول و سینامون اثری بر مصرف ماده خشک، افزایش وزن روزانه و بازدهی خوراک نداشت. علاوه بر این، pH شکمبه، غلظت نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار شکمبه بین گروه‌های تیماری مشابه بود تنها مولار اسیدهای چرب فرار تحت تأثیر قرار گرفت. غلظت‌های پلاسمایی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، اوره، بتاهیدروکسی بوتیرات، ALT و AST درنتیجه مصرف تیمول و سینامون تغییر نکرد. نتایج این مطالعه پیشنهاد نمود که مکمل‌سازی تیمول و سینامون ممکن است به‌عنوان تعدیل‌کننده تخمیر شکمبه سودمند باشد.

همان‌طور که عنوان شد اسانس گیاهان مختلفی به دلیل دارا بودن متابولیت‌های ثانویه موردمطالعه قرارگرفته‌اند. از بین آن‌ها گونه‌های *Salvia officinalis*، *Lavandula stoechas* L، Thymus و *Capparis spinosa* انتخاب و در این پژوهش مورداستفاده قرار گرفتند که در زیر به‌اختصار به معرفی آن‌ها پرداخته خواهد شد.

۱-۱-۱۱- مریم‌گلی

مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) از راسته لب‌گلی‌ها (*Lamiales*) و تیره نعنائیان (*Lamiaceae*) است. گیاه مریم‌گلی گیاهی بوته‌ای به ارتفاع ۳۰سانتیمتر است که در مکان‌های خشک و سنگلاخی و دامنه‌های بایر غالب نواحی آسیا و شمال آفریقا می‌روید. میوه مریم‌گلی حاوی ماده‌ای به نام سیلی‌مارین است. سیلی‌مارین موجود در بذر گیاه مریم‌گلی شامل سه ایزومر اصلی به نام‌های سیلی‌بین، سیلی‌دیانین و سیلی‌کریستین می‌باشند (رادکو و همکاران، ۲۰۰۷). سیلی‌مارین موجود در میوه مریم‌گلی علاوه بر تثبیت غشاء با حذف نمودن رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، موجب اعمال این نقش حفاظتی می‌گردد.

این گیاه از حدود هزار سال قبل شناخته شده و در کتاب‌های سنتی با نام‌های شالیبه و مریمیه عنوان‌شده است. به‌طورکلی، حدود هزار گونه از این گیاه در دنیا یافت شده که ۱۷ گونه از آن‌ها متعلق به ایران است. مریم‌گلی گیاهی پرشاخه با ارتفاعی حدود ٦٠-۳۰ سانتی‌متر و ظاهر پرپشتی است. گل‌های آن مایل به بنفش و به میزان کمی سفید است (قوسیان مقدم و همکاران، ١٣٩٤). (شکل ۲-۳)

شکل۲-۳- گیاه مریم‌گلی

در طب سنتی از مریم‌گلی در تسکین درد، عفونت‌های ویروسی و باکتریایی و محافظت بدن در برابر شرایط استرس اکسیداتیو و زیان‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد استفاده‌شده است. به دلیل این اثرات درمانی در بسیاری از کشورهای شرق آسیا و آسیای میانه از آن در درمان بیماری‌ها استفاده‌شده است. علاوه بر موارد عنوان‌شده کاربرد مریم‌گلی در درمان برخی اختلالات و بیماری‌ها مانند افسردگی، زوال عقلی، چاقی، دیابت، بیماری‌های قلبی و سرطان نشان داده‌شده است (حمیدپور و همکاران، ۲۰۱۳) و به علت دارا بودن فیتواستروژن فلانوئید برای کاهش اثرات یائسگی استفاده می‌شود (عبداله و همکاران، ۲۰۱۰). رزمارینیک اسید، اسید کافئیک و کارسنول به‌عنوان ترکیبات شاخص عصاره گیاه مریم‌گلی گزارش‌شده‌اند (سانتوس-گومز و همکاران، ۲۰۰۲؛ تاناکا و همکاران، ۱۹۹۷). فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره مریم‌گلی به علت دارا بودن فلاوان گلیکوزیدها که مشتقاتی از رزمارینیک اسید هستند موردمطالعه قرارگرفته و نشان داده‌شده که این ترکیبات دارای اثرات مهاری بر رادیکال‌های آزاد هستند (لو و فو، ۲۰۰۱). به‌طورکلی، رزمارینیک اسید استر ۳ و ٤ دی‌هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید و کافئیک اسید بوده و اغلب در گیاهان تیره نعنائیان یافت شده، به‌عنوان یک ترکیب دفاعی شناخته شده و دارای اثرات ضد باکتریایی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی است (پترسن و همکاران، ۲۰۰۳). اسید کافئیک موجود در گیاه مریم‌گلی نیز دارای خواص ضدالتهاب، ضد تومور، ضدویروسی، گشادکننده عروق قلبی، کاهش‌دهنده فشارخون، ضد اسپاسم، ضد نفخ و ضدعفونی‌کنندگی روده است. علاوه بر این، گیاهان حاوی این ترکیب در درمان برخی اختلالات و بیماری‌ها کاربرد دارند (پترسن و همکاران، ۲۰۰۳).

التهاب به‌عنوان بخشی از مکانیسم دفاعی بدن شناخته شده که به دنبال آسیب بافتی اتفاق می‌افتد. پاسخ التهابی بدن به دو شکل حاد و مزمن است. در حالت پاسخ التهابی حاد آزاد شدن نوتروفیل‌ها و تجمع پروتئین‌ها رخ می‌دهد؛ درحالی‌که در حالت مزمن با تجمع لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و رشد بافت همبند

همراه است. گزارش‌های متعدی خاصیت ضدالتهابی و ضد درد مریم‌گلی را بیان داشته‌اند (ایمان شهیدی و حسین‌زاده، ۲۰۰۶؛ رودریگز و همکاران، ۲۰۱۲؛ رائوس و همکاران، ۲۰۱۵). عنوان‌شده است که برگ‌های آن دارای ترکیباتی مانند اسید گالیک، اسید کافئیک، و فلاوونوئیدهایی مانند سالویجنین، تانن و ترپن‌هاست (لو و فو، ۲۰۰۱؛ اولانکتو و همکاران، ۲۰۰۲). ترکیباتی مانند تانن‌ها جزء پلی فنول‌ها هستند که قادر به تعدیل مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با تنظیمات داخل سلولی هستند (پیتا و همکاران، ۲۰۰۳). علاوه بر این، سالویجنین دارای خاصیت محافظتی در برابر مرگ سلولی و اثرات ضدالتهابی است (راثی و همکاران، ۲۰۰۹؛ رافاتاین و همکاران، ۲۰۱۲).

استرس اکسیداتیو حالتی از آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال‌های آزاد و پراکسیدها در سلول و بافت‌های بدن است (اوبو و همکاران، ۲۰۰۷). ترکیبات پلی‌فنولی موجود در گیاه مریم‌گلی دارای اثرات مهاری در برابر پراکسیداسیون چربی‌ها در بدن و بهبود سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است (زیمرمان و همکاران، ۲۰۱۲). طی مطالعه انجام‌یافته توسط حمدی ربی (۲۰۱۳) که به‌منظور بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های مریم‌گلی، آویشن و مزنجوش به روش DPPH انجام یافت، نتایج نشان‌دهنده پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی گونه مریم‌گلی بود. بر این اساس، این محققین مریم‌گلی را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی نمودند (حمدی ربی و همکاران، ۲۰۱۳).

اسدی و همکاران (۲۰۱۱) در مقایسه اثرات آنتی‌اکسیدانی،عصبی حفاظتی و آنتی گلیکاتی عصاره متانولی سه گونه مریم‌گلی (*Salvia mirzayanii* ،*Salvia santinifolia* و *Salvia choloroleuca*) بیان داشتند که هر سه گونه اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی گلیکاتی داشته و فاقد اثرات سمی برای سلول‌های عصبی بودند. نتایج مطالعه این محققین نشان داد که گونه‌های مریم‌گلی موردمطالعه موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز شده، پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داده و پروتئین‌های کنترلی هم اکسیژناز-۱ و گلوتامیل سیستئین سنتتاز را افزایش دادند.

در مطالعه اثرات مکمل‌سازی اسانس مریم‌گلی و سدیم سلنیت بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت بیگانه خوارای خونی جوجه‌های گوشتی، ریزنر و همکاران (۲۰۱۳) افزایش مصرف خوراک، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در کبد و مخاط دئودنوم، کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز گلبول‌های قرمز با مصرف اسانس مریم‌گلی و سدیم سلنیت را گزارش نموده و اسانس مریم‌گلی را به‌عنوان ترکیبی با اثرات سودمند بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی بیان کردند.

گانتنر و همکاران (۲۰۱۸) اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره مریم‌گلی بر کیفیت قطعات گوشت بوقلمون بسته‌بندی‌شده در محیط سرد را موردبررسی قراردادند. دلیل استفاده از عصاره مریم‌گلی را حضور ترکیبات فنولی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در ترکیب این گیاه بود. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داده در طی زمان نگهداری گوشت رشد میکروبی و اکسیداسیون لیپید به‌سرعت افزایش یافت اما عصاره مریم‌گلی در روز آخر مطالعه قابل‌توجه بود. به‌علاوه نتایج آزمایش‌های ترکیبات فرار گوشت نشان داد که پس از افزودن عصاره مریم‌گلی تشکیل ترکیبات اکسیداسیون لیپید به تأخیر افتاد. بدین ترتیب بیان شد که عصاره مریم‌گلی پتانسیل استفاده به‌عنوان محافظ طبیعی در صنعت گوشت را دارد.

گیاهان دارویی متعددی به دلیل دارا بودن خاصیت ضدمیکروبی کاربردهای گسترده‌ای در درمان بیماری‌ها دارند. گیاه مریم‌گلی دارای ترکیبات توژن، ترپن، ۱ و ۸ سینئول، تانن، بورنئول، بونئول استات، و اسیدهای فنولی است. طی مطالعه‌ای با استفاده از گیاه مریم‌گلی، نشان داده شد که ترکیبات آلفا توژن، کافور و ۱و۸ سینئول موجود در مریم‌گلی دارای خاصیت ضدمیکروبی هستند (عبدالمجید و حسین، ۲۰۰۸؛ آلکان و همکاران، ۲۰۱۲). اسانس این گیاه در برابر گونه‌های باکتریایی سالمونلا، شیگلا، کریپتوکوکوس نئوفرمانس، اشریشیاکلی و کاندیدا آلبیکانس دارای فعالیت ضدمیکروبی است. در مطالعه رضایی و همکاران روی تأثیر اسانس ضروری مریم‌گلی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی، اثرات باکتری کشی اسانس این گیاه با تأثیر ضد میکروبی بیشتر روی سویه استافیلوکوکوس اورئوس نشان داده شد. در

پژوهش دیگری سنبلی و همکاران (۲۰۰۶) فعالیت ضدمیکروبی ۳ گونه مریم‌گلی شامل *Salvia mirzayanii*، *Salvia santolinifolia* و *Salvia hydrangea* را موردبررسی قرار داده و این اثرات را به حضور ترکیباتی همچون لینالول و ۱ و ۸ سینئول مرتبط دانستند.

رسولی و همکاران (۲۰۱۹) طی مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی اثرات سطوح مختلف عصاره برگ مریم‌گلی روی عملکرد، فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی و جمعیت میکروبی ایلئومی را موردمطالعه قراردادند. نتایج مطالعه محققین فوق نشان داد که سطوح مختلف عصاره مریم‌گلی کلسترول کل، تری گلیسیرید و LDL پلاسما را کاهش و منجر به افزایش HDL شد. با افزایش سطوح عصاره پاسخ ایمنی بهبود یافت و اثرات معنی‌داری بر جمعیت *E. coli* مشاهده شد و به‌طورکلی عصاره برگ مریم‌گلی اثرات وابسته به دز روی ایمنی و جمعیت میکروبی ایلئوم را داشت.

۱-۱-۱۲- اسطوخودوس

اسطوخودوس (*Lavandula stoechas* L) متعلق به جنس *Lavandula*، خانواده Lamiaceae، رده Magnoliophsida و شاخه Magnoliophyta گیاهی چندساله، بوته‌ای و پرپشت بوده، گل‌هایی به رنگ ارغوانی تیره و به شکل سنبله‌های فشرده دارد. این گیاه دارای ساقه‌های متعدد و چهارگوش است که تا ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر می‌رسد. میوه گیاه اسطوخودوس به‌صورت چهار فندقه بوده که پس از رسیدن شکل بیضی و قهوه‌ای‌رنگ می‌شود. این گیاه در هر دو سطح پهنک دارای برگ‌های پوشیده از کرک‌های پنبه‌ای، باریک و دراز با لبه‌هایی برگشته دارد (امید بیگی، ۱۳۷۹). (شکل ۲-٤)

شکل ۲-٤- گیاه اسطوخودوس

به لحاظ پراکندگی، اسطوخودوس گیاهی مدیترانه‌ای بوده که منشأ آن مناطقی در جنوب اروپا و اسپانیا عنوان گردیده است (قهرمان، ۱۳۷۳). در ایران نیز به‌صورت پرورشی در سرتاسر کشور یافت می‌شود. اسطوخودوس در هر نوع خاکی رشد می‌نماید و برای رشد به نور فراوان و هوای گرم اما رطوبت پایین نیازمند است.

اسطوخودوس در طب سنتی به‌عنوان گیاهی ضد نفخ، ضداسپاسم و تقویت‌کننده شناخته شده و عصاره آن در درمان آکنه و میگرن به کار می‌رود. در برخی مناطق به‌عنوان گیاهی ضد دیابت به‌کاررفته و برگ و گل-های تازه در درمان سردرد، دردهای رماتیسمی مفاصل کاربرد داشته و بخور گل‌های آن برای معالجه سرماخوردگی استفاده می‌شود (ویچل و همکاران، ۲۰۰۲).

اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* گیاهی چندساله و خودرو بوده که در اغلب نقاط دنیا به‌ویژه جنوب فرانسه و مدیترانه رویش دارد و تا ارتفاع نیم متر می‌رسد. ترکیبات اسانس اسطوخودوس عبارت‌اند از ۳٤ درصد لینابوب، ۱۸/۱۵ درصد ۱ و ۸ سینئول، ۱٤/۵ درصد بورنئول و ۱۰/۲ درصد کامفور (کاستیلجوس و همکاران، ۲۰۰۸). ازجمله خواص اسطوخودوس آرام‌بخش بودن، اثرات ضدالتهاب، ضد درد، ضد قارچی و ضدعفونی‌کنندگی است. علاوه بر این، اثرات این گیاه در تقویت سیستم ایمنی، سیستم گردش خون و درمان ناهنجاری‌های تنفسی، عصبی و گوارشی نشان داده‌شده است.

در ارتباط با اثرات گیاه اسطوخودوس در تغذیه و سلامتی دام مطالعات بسیار اندک و انگشت‌شمار بوده و اغلب محدود به جوجه گوشتی می‌باشد.

اثرات اسانس اسطوخودوس (*Lavandula stoaches*) بر عملکرد رشد، خصوصیات لاشه، کیفیت گوشت و وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی در مطالعه‌ای توسط کوچوکیلماز و همکاران (۲۰۱۷) موردمطالعه قرار گرفت. سطوح مورد مطالعه اسانس ۰، ۲٤ و ٤۸ میلی‌گرم در کیلوگرم عنوان شد. نتایج نشان داد که وزن بدنی جوجه‌های دریافت‌کننده ۲٤ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس در مقایسه با دیگر گروه-های تیماری بالاتر بود. علاوه بر این، هر دو گروه تیماری حاوی اسانس اسطوخودوس موجب افزایش وزن نهایی جوجه‌ها شدند. بررسی فراسنجه های مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک و مرگ میر حاکی از نبود تفاوت آماری بین تیمارهای آزمایشی بود. تولید گوشت سینه و غلظت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در جوجه‌های دریافت‌کننده ۲٤ و ٤۸ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس اسطوخودوس در مقایسه با تیمار شاهد بالاتر گزارش شد. این محققین نتیجه‌گیری نمودند که اسانس اسطوخودوس توانایی استفاده به‌عنوان محرک رشد در تغذیه جوجه‌های گوشتی را با پتانسیل بهبود کیفیت گوشت سینه دارد.

آدازینسکا و زیربینسکا (۲۰۱۸) فعالیت ضد میکروبی اسانس روغنی اسطوخودوس و اثرات آن بر عملکرد تولیدی جوجه‌های گوشتی سویه رأس را مورد مطالعه قراردادند. این محققین اسانس موردمطالعه را به آب آشامیدنی جوجه‌ها اضافه می‌کردند. نتایج مطالعه آن‌ها اثرات ضدمیکروبی و مفید اسانس اسطوخودوس بر عملکرد را نشان داد. استفاده از غلظت‌های بالاتر اسانس (۰/٤ میلی‌لیتر در لیتر) به‌صورت معنی‌داری نتایج مصرف خوراک، مصرف آب، نسبت مصرف آب به خوراک و مرگ میر را تحت تأثیر قرارداد و در شرایط آزمایشگاهی از رشد باکتری‌ها ممانعت به عمل آورد.

در مطالعه‌ای توسط تاکی و همکاران (۱۳۹٤) اثرات تغذیه اسانس اسطوخودوس در سطوح مختلف بر خصوصیات کمی و کیفی تخم‌مرغ، فراسنجه‌های خونی و مورفولوژی تخمدان مرغ‌های تخم‌گذار

موردمطالعه قرار گرفت. این محققین گزارش نمودند که سطوح مختلف اسانس اسطوخودوس تأثیری بر درصد تولید تخم، ضریب تبدیل خوراک، تری گلیسیرید، گلوکز و HDL خون، صفات مربوط به تخمدان نداشت اما موجب کاهش غلظت کلسترول و LDL خون ، افزایش وزن و تعداد فولیکول‌های زرد بزرگ و وزن و ضخامت پوسته تخم‌مرغ شد. درنتیجه افزودن اسانس اسطوخودوس تا سطح ppm ٤٠٠ دارای اثرات مثبت بر وزن و خصوصیات تخم‌مرغ و تعداد فولیکول‌های زرد بزرگ بود.

در مطالعه‌ای برون تنی اثرات ضدمیکروبی اسانس اسطوخودوس و نانوامولسیون بر سویه تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) موردمطالعه قرار گرفت (ضیائی و همکاران، ۲۰۱۷). نتایج این پژوهش نشان داد اسانس اسطوخودوس در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثرات ممانعتی مطلوبی در مقابل رشد سویه تریکوموناس داشته و می‌تواند انتخاب مناسبی برای مطالعات درمانی در برابر سویه تریکوموناس باشد.

بویحیی و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای اسانس *Lavandula stoechas* رویش یافته در کشور مراکش را به‌عنوان منبعی از ترکیبات دارای فعالیت ضدانگلی، ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی موردمطالعه قراردادند. ترکیبات اصلی اسانس اسطوخودوس فنکون (۳۱/۸۱)، کامفور (۲۹/٦۰)، ترپینئول (۱۳/۱٤)، منتون (۸/۹٦) و اوکالیپتول (۵/۸۸) درصد گزارش شد. این محققین ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی و اثرات ضد باکتریایی اسطوخودوس در برابر لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس آرئوس را بیان داشتند و عنوان نمودند که این گیاه پتانسیل استفاده در صنایع غذایی و دارویی را دارد.

۱-۱-۱۳- آویشن

آویشن یا تیموس Thymus دارای دو منشأ مصری و یونانی می‌باشد: منشأ مصری Tim به معنای گیاهانی که برای مومیایی مردگان به کار می‌رفته و منشأ یونانی Thuo به معنای عطر می‌باشد (جم زاده، ۱۳۷۳).

خاستگاه آویشن شرق مدیترانه کشورهایی مانند فرانسه، ایتالیا، اسپانیا، پرتقال و برخی مناطق آسیایی کوهستان‌های مرتفع ۱۲۰۰ متری است (ملافیلابی، ۱۳۷۹). این گیاه در کشور ما ١٦ گونه دارد که رویشگاه آن‌ها نواحی مرتفع است (قهرمان، ۱۳۷۳). گیاه آویشن در مناطق مرتفع کوهستانی با آب‌وهوای گرم و آفتابی به‌صورت خودرو رویش می‌یابد (آزاد، ١٣٦٩). تعداد گونه‌های گزارش‌شده در ایران ۷ گونه است که رویشگاه آن استان‌های شمالی، غربی، کوه‌های البرز، اطراف تهران و نواحی جنوبی ایران است (جم‌زاده، ۱۳۷۳).

شکل کاسه غده پوش و دارای غدد فاقد پایه سبز و منقوش با نقطه‌های قرمزرنگ است. آویشن دارای گل-هایی به رنگ صورتی ارغوانی با گل‌آذین رأسی است. این‌گونه دارای ریشه‌ای راست با ساختار چوبی و لیگنینی بوده که دارای انشعابات فراوانی است (هورناک، ۱۹۹۲). در کنار آن پوشیده از کرک‌های به رنگ خاکستری است که محتوی اسانس هستند (ملافیلابی، ۱۳۷۹). (شکل۲-۵)

شکل ۲-۵- گیاه آویشن

اسانس آویشن از تقطیر برگ و سرشاخه‌های گل‌دار گیاه به‌دست‌آمده و به لحاظ تجاری محصولی ارزشمند است. این اسانس مایعی به رنگ زرد یا زرد قهوه‌ای مایل به قرمز تیره است که بویی قوی و طعمی تند و خنک دارد. ترکیبات شیمیایی اسانس آویشن گسترده است اما گزارش‌شده که اسانس آویشن غنی از ترکیبات فنولی بوده و دارای خواص ضد قارچی و ضدمیکروبی است. ازجمله ترکیبات آویشن می‌توان به تانن‌ها، ساپونین‌ها و ضدعفونی‌کنندگان گیاهی موجود در برگ‌های آویشن اشاره کرد که بسته به منطقه رویش و شرایط اقلیمی منطق رویش مقدار آن‌ها متغیر است (ماهر و همکاران، ۲۰۱۲). برگ‌های آویشن ۲/٦–۰/۸ درصد اسانس دارند که ترکیبات اصلی آن تیمول و کارواکرول هستند. در کنار این‌ها سیمین، پینن استات بورنیل و لینالول در سطح کمتر در اسانس آویشن یافت می‌شوند (کاوار و همکاران، ۲۰۱۳).

همان‌طور که عنوان شد اسانس آویشن دارای خواص ضد باکتری و ضد قارچی است. علاوه بر این، اثراتی همچون ضد نفخ، ضد تشنج و نیروبخشی نیز برای آن گزارش‌شده است (نقدی بادی، ۲۰۰٤). اثرات ضد میکروبی اسانس آویشن علیه باکتری‌های سالمونلا پاراتیفی A و B، استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکی در مطالعات جداگانه توسط صادق‌زاده و همکاران (۱۳۸۵)، رسولی و رضایی (۲۰۰۲)، زهرایی صالحی و همکاران (۱۳۸٤) گزارش‌شده است. طی مطالعه‌ای توسط تاباک و همکاران (۱۹۹۹) بیان شد که عصاره آبی آویشن دارای اثرات ضد باکتریایی علیه هلیکوباکتر پیلوری است. دلیل این امر ممانعت عصاره گیاه از فعالیت اوره‌آزی و رشد باکتری عنوان‌شده است.

اولین بار در سال ۱۹٦۵ بورچرز اثرات اسانس آویشن بر مایع شکمبه را موردبررسی قرارداد. وی گزارش نمود که انکوبه کردن کازئین در مایع شکمبه با تیمول (۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به تجمع اسیدهای آمینه و کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در شکمبه شده و مانع از آمین‌زایی می‌شود. در پژوهش مشابه دیگری، گزارش شد که غلظت‌های پایین تیمول موجود در اسانس آویشن (۵۰ میلی‌گرم در لیتر) اثری بر تخمیر میکروبی شکمبه نداشت، در مقابل دزهای بالاتر (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب کاهش غلظت

نیتروژن آمونیاکی و اسیدهای چرب فرار در مایع شکمبه شد. علاوه بر این موجب افزایش نسبت استات به پروپیونات شد (کاستیلجوس و همکاران، ۲۰۰٦).

عنوان‌شده است که کاهش pH شکمبه افزایش اثرات ضدمیکروبی اسانس آویشن را به دنبال دارد (جوون و همکاران، ۱۹۹٤). دلیل این امر این‌گونه بیان‌شده است که در pH پایین گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار اسانس غیرمجزا و هیدروفوب‌تر بوده درنتیجه به‌آسانی به مولکول‌های دولایه لیپیدی غشای سلول باکتری متصل می‌شوند و اثرات ضد باکتریایی خود را اعمال می‌کنند (اولته و همکاران، ۲۰۰۲). علاوه بر این پایین بودن وزن مولکولی تیمول موجود در ترکیب اسانس آویشن امکان اتصال بهتر به غشای سلول از طریق منافذ دیواره خارج سلول را فراهم می‌کند. اثرات ضد باکتریایی تیمول و کارواکرول (ترکیبات اصلی موجود در اسانس آویشن) علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی و به‌منظور تعدیل تخمیر میکروبی در شکمبه قوی و غیراختصاصی است (کاستیلجوس و همکاران، ۲۰۰٦).

کارواکرول از ترکیبات اصلی اسانس آویشن بوده و طی مطالعه‌ای توسط بوسکوئت و همکاران (۲۰۰۵) در شرایط آزمایشگاهی ۲ ساعت بعد از خوراک‌دهی به مایع شکمبه اضافه شد و با ممانعت از پروتئولیز یا افزایش تجزیه پپتیدها موجب کاهش میزان پپتیدهای بزرگ و افزایش نیتروژن آمونیاکی شد. این ترکیب در غلظت‌های بالاتر موجب افزایش pH و نسبت بوتیرات در مقابل کاهش نسبت استات و پروپیونات و غلظت یک اسیدهای چرب فرار شد.

۱-۱-۱٤- کبر

گیاه کبر (کاپر) *Capparis spinose* متعلق به خانواده کاپاریداسه یا کاپارایه و از جنس کاپاریس است. گیاهی بوته‌ای و دائمی بوده که در حدود ۲۵۰ گونه‌ی شناخته شده دارد. در مناطق مختلف جهان با نام‌های کاپر (انگلیسی)، کابار (عربی)، الکاپارا (اسپانیایی)، گولارو (پاکستانی) و کبر یا علف مار در ایران شناخته

می‌شود. این گیاه دارای ریشه‌های عمیق با ارتفاع ۱۰۰-۳۰ سانتی‌متر است (زوهاری، ۱۹۶۰؛ ساعادویی و همکاران، ۲۰۱۱). گیاه کبر به دو فرم خاردار یا بدون خار بوده و دارای شاخه‌های تعدد پوشیده از کرک با انشعابات ساقه که از یک ناحیه چوبی شده و به شکل گسترده روی زمین است که طول شاخه‌های آن به ۱۴۷ تا ۲۱۱ سانتی‌متر می‌رسد (باربارا و لورنزو، ۱۹۹۱). برگ‌های آن ساده و بدون دندانه و به رنگ سبز روشن و دارای زوائد دراز خار مانند در محل اتصال دمبرگ و ساقه هست. گل‌های کبر اغلب درشت و به رنگ سفید مایل به گلی دارای تعداد زیادی پرچم بلند هستند. میوه گیاه در انتهای زائده دراز ایجادشده و به شکل بیضی و گوشتی است که در ابتدا سبز روشن و به تدریج به رنگ قرمز درمی‌آید (رومئو و همکاران ، ۲۰۰۷). (شکل ۲-۶)

شکل ۲-۶- گیاه کبر

به لحاظ پراکندگی جغرافیایی کبر دارای گستردگی وسیعی از نواحی مدیترانه‌ای تا سواحل آتلانتیک،جزایر قناری و مراکش در دریای سیاه و ارمنستان و از نواحی خزری و دیگر نواحی رشد و نمو می‌یابد. مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین مناطق رشد جنس کاپاریس ترکیه، مراکش، اسپانیا، یونان، فرانسه و ایتالیا است (اوزجان و آقگول، ۱۹۹۸). کبر نسبت به شرایط آب و هوایی سرد مقاومت بالایی داشته و ریشه این گیاه توانایی زنده‌مانی در دماهای پایین را دارد. رویشگاه این گیاه می‌تواند ۱۰۰۰ متر بالاتر از سطح دریا یا در ارتفاعات پایین‌تر از سطح دریا باشد. کبر به خاک‌ها فقیر سازگار بوده و در مناطق سنگی و کوه‌ها نیز گسترده است و

در انواع مختلف خاک‌ها (اسیدی و قلیایی) رشد می‌کند. داشتن ریشه‌های عمیق و گستردگی کبر مانع از فرسایش خاک می‌شود (اوزگون و همکاران، ۲۰۰٤). کبر گیاهی بادوام بوده که در تابستان رشد کرده و از اواسط آوریل تا اواخر سپتامبر دارای گل بوده و در دماهای بالا و رطوبت پایین خاک نیز رشد و نمو می-یابد (سوزی، ۲۰۰۱).

استفاده از قسمت‌های مختلف گیاه کبر ازجمله ریشه، پوست، برگ، جوانه، میوه و بذر در درمان بیماری-های مختلفی مانند روماتیسم، مشکلات شکم، سردرد و دندان درد کاربرد دارد. مصریان باستان و اعراب از کبر در درمان بیماری‌های کبدی، جنسی، پوستی و مشکلات شکمی و نیش عقرب استفاده می‌کرده‌اند و برگ‌ها کبر در درمان بیماری‌های پوستی، گوش درد و ضدعفونی زخم گوش به کار می‌رفته است (جیانگ و همکاران، ۲۰۰۷). در طب سنتی ایرانی نیز از قسمت‌های مختلف کبر همچون ریشه، پوست و میوه به‌عنوان مدر، تقویتی و ضدمالاریا و بیماری‌های مفاصلی استفاده می‌شده است (افشاری‌پور و همکاران، ۱۹۹۸). در هندوستان جوانه و ریشه کبر در درمان جوش، برگ‌ها به‌عنوان ضدسوزش و درمان ورم و ریشه‌ها در درمان تب، روماتیسم، دندان درد و ضدعفونی زخم گوش و پوست این گیاه در معالجه صرع، تنگی نفس و التهاب کاربرد دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروتئین دارای اثرات ضدسرطانی، ضد قارچی و اثر مهاری روی HIV-1 از بذرهای کبر جداسازی شده است (تسوریر و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش‌شده که عصاره میوه کبر قادر به کاهش معنی‌دار سطح گلوکز و گلوکوزیلات هموگلوبین خون در دیابت نوع ۲ است (فلاح حسینی و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر این کوئرسین موجود در کبر به پیشگیری از سرطان کمک می‌کند (کائو و همکاران، ۲۰۱۰).

وجدیلو و همکاران (۲۰۱۹) ترکیبات سلامت‌افزای بالقوه گل کبر را در ٦ مرحله رویشی و در دو کشت مورد ارزیابی قراردادند. ترکیبات پلی فنولی مانند فلاوونول‌ها، هیدروکسی سینامیک اسید و فلاوان -۳- اول توسط کروماتوگرافی شناسایی شد. به علاوه، خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، پتانسیل ضد دیابتی (آلفا آمیلاز و

آلفا گلوکوزیداز) و فعالیت ضدپیری (استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز) در غنچه‌ها مورد آزمایش قرار گرفت. بر اساس نتایج فلاونول‌های گل کبر مخلوطی از کوئرسین، کافرول، میریستین و مشتقات ایزورامنتین گلیکوزیدی بود. نتایج همچنین اثرات خصوصیات آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی گیاه کبر را اثبات کردند.

ژانگ و ما (۲۰۱۸) خصوصیات فیتوشیمیایی و دارویی کبر به‌عنوان گیاه دارویی را موردمطالعه قراردادند. محققین فوق حضور ترکیبات فیوشیمیایی ریست فعال جداشده از اندام‌های مختلف گیاه همانند قسمت-های هوایی، ریشه و دانه را اعلام نمودند. ترکیبات فیتوشیمیایی متعددی از قسمت‌های مختلف کبر جداسازی و شناسایی‌شده‌اند که به‌تنهایی یا به‌صورت ترکیب باهم مسئول فعالیت‌های دارویی متعددی هستند. نویسندگان عنوان کردند که هیچ داده یا مطلبی در ارتباط با اثرات سودمند کبر در بهبود سلامت انسان وجود ندارد و مطالعه در این رابطه نیازمند انجام است.

دریکی از معدود مطالعات دامی ایلدیریم و همکاران (۲۰۱٤) اثرات میوه خشک کبر روی تولید و خصوصیات کیفی تخم‌مرغ را مورد آزمایش قراردادند. نتایج آن‌ها نشان داد وزن نهایی، مصرف خوراک، شاخص شکل تخم‌مرغ و تولید صبح تخم به‌وسیله جیره‌های آزمایشی تحت تأثیر قرار گرفت. اثرات افزایش سطح پودر میوه خشک کبر بر وزن تخم، چگالی ویژه، مقاومت شکست پوسته ، ضخامت پوسته و ناحیه سطح تخم، pH آلبومن، شاخص آلبومن، شاخص زرده، وزن پوسته معنی‌دار نبود. بر اساس نتایج این تحقیق مکمل‌سازی جیره با پودر خشک میوه کبر اثرات مضر بر عملکرد تولیدی و کیفیت تخم‌مرغ داشت.

۱-۲- ویتامین C و نقش آن در سلامت دام

چالش‌های اخیر در ارتباط با نحوه برآورد احتیاجات ویتامین‌ها و مواد معدنی و ابداع تکنیک‌های جدید برای ارتقاء احتیاجات مواد مغذی گاوهای شیری شده است، از طرفی افزایش پتانسیل ژنتیکی دام‌های

امروزی ، محققان را بر آن داشته است تا بر گزارش‌های پیشین خود تجدیدنظر کرده و به برآورد احتیاجات جدید دام‌ها با سطح تولید کنونی بپردازند. مشخص‌شده است که ویتامین‌های موردنیاز و مواد معدنی کم‌مصرف برای پاسخ بهینه سیستم ایمنی بیشتر از مقدار موردنیاز آن برای رشد و تولیدمثل می‌باشد. لذا زمانی که حیوان در معرض کمبود ریزمغذی‌ها قرار می‌گیرد، اولین بخشی از بدن که دچار نقصان خواهد شد سیستم ایمنی خواهد بود . البته این وضعیت در ابتدا به‌صورت تحت کلینیکی است که سبب زیان‌های اقتصادی بزرگی در گله‌های گاو شیری می‌شود. ویتامین C در نقش بیولوژیک کلاژن نقش بسزایی دارد. کمبود آن منجر به بیماری آسکوربوت شده و این ویتامین اصطلاحاً برای سنتز کلاژن جهت ترمیم موردنیاز است. همچنین برای اتصال پرولین و لیزین موجود در غشاهای زیرین کلاژن موردنیاز است (ویلسون و همکاران، ۲۰۰۷). کمبود ویتامین C باعث کاهش یکپارچگی اپیتلیوم مخاطی خواهد شد و همچنین پارگی مویرگی و افزایش شیوع بیماری پریودنتال و کاهش بهبود در زخم‌ها را باعث می‌شود (چاتارجی، ۲۰۰۲). ویتامین C یا اسید آسکوربیک نقش مهمی را در مکانیسم‌های متنوع اکسیداسیون و احیای سلول‌های زنده ایفا می‌کند. ویتامین C در دو فرم اسید آسکوربیک ال (فرم احیا شده) و اسید آسکوربیک دهیدرو (شکل اکسید شده) وجود دارد. اسید آسکوربیک ال می‌تواند به‌طور معکوس به اسید آسکوربیک دهیدرو اکسید شود. ویتامین C به شکل ساختاری مشابه قند است و به نحوی شبیه مونوساکارید جذب می‌شود، جذب توسط سیستم انتقال فعال وابسته به سدیم در غلظت‌های پایین و با انتشار در غلظت‌های بالا جذب می‌شود (وو و همکاران؛ ۲۰۱۱). با توجه به عدم قطعیت سنتز میکروبی در روده گوساله‌های جوان و همچنین سطوح بالای استرس گوساله‌ها و چندین مطالعه منتشرشده از علائم کمبود ویتامین C، میلر و همکاران (۲۰۰٤) توصیه‌هایی برای اضافه کردن ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میلی‌گرم در روز (با توجه به وزن و سن) کردند. معمولاً جذب روده کوچک با میزان جذب ظاهری ۸۰ تا ۹۰ درصد است مگر در گونه‌های خاص مانند موش که بالاترین جذب را در ایلیوم دارد (هورنینگ و همکاران، ۲۰۰٤). در نشخوارکنندگان مقادیر زیادی

از اسیدآسکوربیک در دستگاه گوارش ترشح یافته و سپس به‌صورت دهیدرواسکوربیت جذب می‌شود، تولید اندوژن ویتامین C وابسته به حضور یا عدم حضور آنزیم میکروزمال کبدی (ال-گلوکونولاکتون اکسیداز) است که توانایی ترکیب با سدیم آسکوربیک منوساکارید را فراهم می‌کند (نانلیو و همکاران، ۲۰۱۰). دهیدرواسکوربیک اسید، فرم ترجیحی ویتامین C برای جذب توسط اریتروسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها است. بازیافت بین دهیدرواسکوربات و آسکوربات یکی از ویژگی‌های برجسته ویتامین C در گلبول‌های سفید خون است و به نظر می‌رسد در حفظ ذخایر آنتی‌اکسیدانی کمک می‌کند (مندریتا، ۲۰۰۶). اسید آسکوربیک توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز وکاتالاز که نیاز به مس، روی، منگنز و آهن دارند، تثبیت می‌شود (بندیچ، ۱۹۸۶). اسید اسکوربیک به‌طور گسترده‌ای در سراسر بافت‌ها توزیع می‌شود. بیشترین غلظت در غدد فوق کلیه، غده هیپوفیز، پانکراس، طحال و گلبول‌های سفید یافت می‌شود . در گوساله‌ها مخازن اصلی اسید آسکوربیک در بافت کبد، ماهیچه و ریه‌ها هستند (توتین و همکاران، ۲۰۰۷). نقش دیگر ویتامین C آنتی‌اکسیدان محلول در آب است که عملکرد آن با آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گلوتاتیون ارتباط دارد.

ویتامین C در کنترل سنتز گلوکوکورتیکوئیدها (کورتیکواستروئیدها) در غدد آدرنال دخیل است. اثرات محافظتی ویتامین C بر سلامتی ممکن است بخشی از کاهش سطح سرمی گلوکوکورتیکوئیدها باشد. در طول استرس، گلوکوکورتیکوئیدها که پاسخ سیستم ایمنی را سرکوب می‌کنند ، افزایش می‌یابند. ویتامین C باعث کاهش سنتز گلوکوکورتیکوئیدها آدرنال می‌شود و به حفظ ایمنی کمک می‌کند. علاوه بر این، آسکوربات می‌توانند فرم احیا شده آلفا توکوفرول را بازسازی کند. در فرآیند اکسیداسیون اسیدهای چرب ، توکووفرول به رادیکال آزاد توکوفرول می‌شود (بولر و همکاران، ۲۰۰۸). اسید آسکوربیک و گلوتاتیون بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان محلول در لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها هستند. بازیافت گسترده ویتامین C در نوتروفیل‌ها منوسیت‌ها و ماکروفاژها رخ می‌دهد و این فرآیند با حضور باکتری‌ها تحریک می‌شود .کمبود

ویتامین ث باعث کاهش باکتری‌کش نوتروفیل‌ها می‌شود و به نظر می‌رسد عفونت‌های مزمن پوست به مکمل‌های ویتامین C پاسخ می‌دهد. اسید آسکوربیک تولید نیتریک اکسید در ماکروفاژها را افزایش می‌دهد که در واکنش‌های ضد باکتری دخیل است (ونگ و همکاران، ۲۰۰۹). مکانیسم‌های دفاع مؤثر بر آسیب‌های رادیکال آزاد به‌طور عمده شامل ویتامین C، بتاکاروتن و ویتامین E به‌عنوان منابع اصلی آنتی‌اکسیدانی ویتامین هستند.

۱-۲-۱- ویتامین E و نقش آن در سلامت دام

اثرات و خواص مختلفی به ویتامین E نسبت داده‌شده است و گاه به‌عنوان نوش دارو از آن یادشده است. چنین نسبت‌هایی به این دلیل است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی که این ویتامین در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد، در بدن قابل‌تعمیم است. ازآنجایی‌که این ویتامین در شرایط آزمایشگاهی چربی‌های اشباع‌نشده را از اثر عوامل اکسیدکننده محافظت می‌کند، انتظار می‌رفت که در متابولیسم چربی‌ها نیز نقشی ایفا کند. ازاین‌رو تقریباً هم‌زمان با شناخت ویتامین E نقش این ویتامین در متابولیسم چربی‌ها مطرح و موردبررسی قرار گرفت. امروز این اثر حفاظتی ویتامین E و نقش آن به‌عنوان یکی از سیستم‌های آنتی‌اکسیدان در بدن تا حدود زیادی شناخته شده است. نقش بیوشیمیایی ویتامین خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن است. درنتیجه از صدمه دیدن لیپیدهای غشا سلول که وسیله اکسیداسیون ممکن است ایجاد شود، به‌وسیله کاهش هیدروپروکسید جلوگیری می‌کند. ویتامین E نقش اساسی در محافظت غشا سلول‌ها در برابر پراکسیداسیون لیپیدها به عهده دارد، به‌ویژه در اجزایی مانند میتوکندری‌ها و شبکه آندوپلاسمی که حاوی مقدار زیادی لیپیدهای اشباع‌نشده باشند (انجل و همکاران، ۲۰۱۱). ویتامین E یک نام گروهی برای تعدادی از ترکیبات فعال نزدیک به هم است. هشت شکل طبیعی از ویتامین شناخته شده است که بر اساس اشباع بودن یا غیراشباع بودن زنجیر جانبی، تعداد گروه‌های متیل بر روی حلقه ٦-هیدروکسی کرومان دسته‌بندی می‌شود. ازلحاظ بیوشیمیایی

همه اشکال ویتامین E را می‌توان ٦-هیدروکسی کرمان‌ها و یا توکول‌های استخلافی توسط ایزوپرونوئید در نظر گرفت. کلمه توکوفرول اشاره به حضور زنجیرهای جانبی اشباع و کلمه توکوتری اشاره به زنجیرهای جانبی غیراشباع دارد. اختلاف در گروه‌های متیل هم باعث تقسیم‌بندی ویتامین E به انواع آلفا، بتا، دلتا و گاما می‌شود (احمدی و همکاران، ٢٠١٦). ازلحاظ سایر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، این ترکیبات روغنی شکل، بی‌رنگ و یا زردرنگ هستند. در چربی‌ها و حلال‌های آلی به‌خوبی حل می‌شوند. توکوفرول‌ها در محیط‌های اسیدی پایدار و در برابر قلیاها، در حضور یون‌های نیترات، آهن، طلا به‌سرعت اکسید می‌شوند. نسبت به نور طبیعی و حرارت مقاوم بوده ولی اشعه ماوراءبنفش سبب تخریب آن‌ها می‌شود. آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات ناشی از گروه هیدروکسیل فنلی آن‌هاست. محل جذب این ویتامین در پستانداران ژژنوم می‌باشد. با توجه به ماهیت چربی‌دوست این ویتامین جذب آن وابسته به سیستم جذب چربی‌ها بوده و بنابراین اختلال در سیستم جذب چربی‌ها (بیماری‌های صفراوی، کبدی و لوزالمعده) باعث اختلال در جذب این ویتامین می‌گردد (عباسی و همکاران، ٢٠١٣). این ویتامین در مقادیر بالا و یا برای مدت‌های زیاد در بدن ذخیره نمی‌شود و بنابراین حضور یک منبع جیره‌ای منظور ضروری است. علوفه‌های سرسبز و جوان منبع نسبتاً خوبی از این ویتامین هستند. کمبود ثانویه این ویتامین به دنبال مصرف جیره‌های حاوی اسیدهای چرب غیراشباع بالا هم به وجود می‌آید. در این شرایط مقداری از ویتامین صرف جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع می‌شود (میتال و همکاران، ٢٠١٤). به نظر می‌رسد ویتامین E اولین سد دفاعی در برابر پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع موجود در فسفولیپیدهای غشای سلولی و تحت سلولی باشد فسفولیپیدهای غشا میتوکندری‌های شبکه آندوپلاسمی و غشا سلولی که حاوی مقدار زیادی چربی‌های غیراشباع هستند، دارای تمایل به ویتامین E بوده و این ویتامین در این مکان‌ها تغلیظ می‌شود.

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مرحله اول تحقیق: تهیه و استخراج اسانس گیاهان دارویی و امولسیون کردن آن در آزمایشگاه

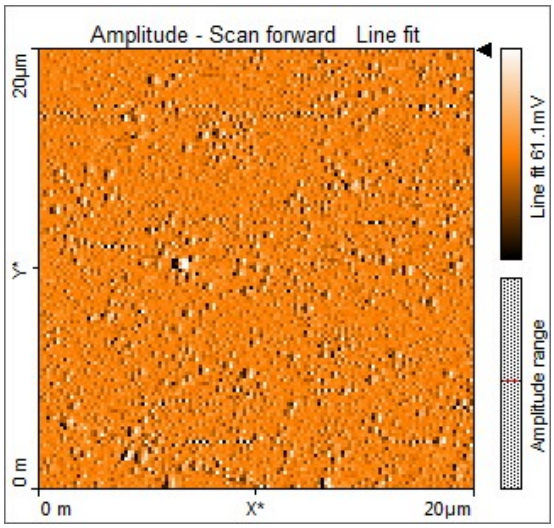
گیاهان دارویی از مزرعه مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل برداشته شد و به مدت ۲ تا ۳ روز در سایه خشک شد. لسیتین و پروتئین آب پنیر از بازار محلی (شیرینی فروشی احسان، اردبیل، ایران)، صمغ عربی از سیگما-آلدریچ (Sigma-Aldrich, CAS Number, 9000-01-5) و اتانول (۹۹/۵ درصد) (Merckmillipore, CAS Number, 64-17-5) تهیه شد.

چهار گیاه دارویی بر اساس اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی گزارش‌شده ازجمله آویشن (Thymus kotschyanus) (رسولی و میرمصطفی ، ۲۰۰۳؛ مرتضی-سمنانی و همکاران ، ۲۰۰۶)، اسطوخودوس (Lavandula angustifolia) (کاوانا و ویلکینسون ، ۲۰۰۵)، کبر (Capparis spinosa) (تیلیلی و همکاران ، ۲۰۱۰) و مریم‌گلی (Salvia officinalis) (بوژین و همکاران،۲۰۰۷) برای تهیه اسانس‌های گیاهی استفاده شد. ترکیبی از گیاهان ، به نسبت ۱: ۱: ۱: ۱ (وزن خشک) ، مخلوط شده و اسانس‌های گیاهی آن‌ها با استفاده از دستگاه نیمه صنعتی (کارخانه استخراج اسانس‌های گیاهی و تقطیرکننده‌های کرمی) با استفاده از روش هیدرودیسلاسیون استخراج شد. برای تهیه اسانس‌های گیاهی امولسیون شده، امولسیون روغن در آب با استفاده از روغن زیتون به‌عنوان فاز لیپیدی، لسیتین و صمغ عربی به‌عنوان امولسیفایر و پروتئین آب پنیر به‌عنوان تثبیت‌کننده امولسیون تهیه شد (raynor et al., 2013; Wu et al., 2014; Caporaso et al., 2016). به‌طور خلاصه ، ۲۵ گرم لسیتین در ۲۵۰ میلی‌لیتر روغن زیتون با حرارت دادن به دمای ۶۰ درجه سلسیوس و مخلوط شدن با استفاده از همزن مغناطیسی (مگنت) به مدت ۱۰ دقیقه حل شد تا مرحله لیپید آماده شود. فاز آبی با حل ۲ گرم صمغ عربی و ۵ گرم پروتئین آب پنیر در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر که قبلاً گرم شده بود (۶۰ درجه سلسیوس) با مخلوط کردن آرام با استفاده از همزن مغناطیسی روی هیتر به مدت ۱ ساعت تهیه شد (Ibanglu, 2002). پس‌ازآن ، فاز چربی و فاز آبی به مدت ۲۰ دقیقه در مخلوط کن با یکدیگر مخلوط شدند.

پس‌ازآن ، ۵۰ گرم از اسانس گیاهی آماده‌شده از مخلوط چهار گیاه دارویی در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول حل شد و به‌آرامی به روغن زیتون در مخلوط آب اضافه شد. حجم نهایی امولسیون با افزودن مقادیر لازم آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسید. محصول نهایی تا زمان استفاده در بطری‌های ۱ لیتری پلی‌اتیلن تنگ و تیره نگهداری شد. محصول نهایی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر از محیط امولسیون داشت. از امولسیون عاری از اسانس‌های گیاهی جهت استفاده در تیمار شاهد استفاده شد.

امولسیون اسانس‌های گیاهی آماده‌شده توسط میکروسکوپ نیروی اتمی موردبررسی قرار گرفت تا یک تصویر میکروسکوپی از اندازه قطرات امولسیون همراه با توزیع آن‌ها به دست آید (شکل ۱). علاوه بر این، ارزیابی چگالی بار سطح (پتانسیل ζ) قطرات امولسیون آماده شده با استفاده از یک روش پراکندگی نور الکتروفورزی اندازه‌گیری شد (nanoPartica SZ-100V2 Series, HORIBA Scientific Instrument, Japan). قبل از اندازه‌گیری ، نمونه امولسیون تهیه‌شده با توجه به محدوده بهینه تشخیص تجهیزات و جلوگیری از اثرات پراکندگی متعدد ، به نسبت ۵: ۱۰۰ ، ۲: ۱۰۰ و ۱: ۱۰۰ با آب مقطر رقیق شد (Loeffleret al., 2014). تمام اندازه‌گیری‌ها پس از ۳ هفته نگهداری در دمای اتاق، به‌عنوان شاخص پایداری امولسیون سه بار برای هر نمونه تکرار شد (Adjonu et al., 2014; Silva et al., 2015; Campelo et al., 2017).

توزیع اندازه قطرات امولسیون بین ۱۰۰–۳۰۰ نانومتر بر اساس نتایج AFM بود (شکل ۲–۱). پتانسیل ζ از ریز قطرات امولسیون به ترتیب در ۵۸/٤ ، – ۷۳/۹ و – ۸۲/۵ برای میزان رقت ۱: ۱۰۰ ، ۱: ۲۰۰ و ۱: ۵۰۰ رقت تعیین شد. ازآنجاکه سیستم‌های امولسیونی با پتانسیل ζ بیشتر از ٦۰– میلی ولت به‌عنوان امولسیون‌های پایدار عالی در نظر گرفته می‌شوند و سیستم‌های دارای پتانسیل ζ بیشتر از ۳۰– میلی ولت سیستم‌های پایدار فیزیکی خوبی هستند، بنابراین همه نمونه‌های موردمطالعه به‌عنوان نمونه‌های طبیعی امولسیون را می‌توان به‌عنوان سیستم‌های امولسیون کاملاً پایدار ذکر کرد.



شکل ۲-۱- تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) از نمونه امولسیون آماده‌شده (پس از رقت ۲: ۱۰۰ (v/v

۲-۲- مرحله دوم

بررسی اثر سطوح مختلف مخلوط امولسیفه شده اسانس‌های گیاهی بر عملکرد متابولیت‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار.

۲-۲-۱- دام‌ها و جیره‌های آزمایشی

چهل گوساله نر هلشتاین از روز ۷ تولد (میانگین وزن بدن ۳±٤۰/٤ کیلوگرم؛ از گله شیری کشت و صنعت و دام‌پروری مغان برای تعیین اثرات ترکیب اسانس گیاهی امولسیون شده بر عملکرد، متابولیت‌های خونی، وضعیت اکسیداسیون و میکرو فلور روده گوساله‌های شیرخوار تعیین شد. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از:

۱) گروه اول یا شاهد (CON): ٤ میلی لیتر از محلول امولسیون بدون اسانس گیاهی محلول در شیر روزانه دریافت کردند.

۲) گروه دوم ۱۰۰ میلی گرم مخلوط اسانس گیاهی بصورت ۲ میلی لیتر امولسیون محلول در شیر روزانه دریافت کردند.

۳) گروه سوم ۲۰۰ میلی گرم مخلوط اسانس گیاهی بصورت ٤ میلی لیتر امولسیون محلول در شیر روزانه دریافت کردند.

٤) گروه چهارم۳۰۰ میلی گرم مخلوط اسانس گیاهی بصورت ٦ میلی لیتر امولسیون محلول در شیر روزانه دریافت کردند.

برای همه گروه‌ها مقدار تعیین‌شده امولسیون تهیه‌شده به‌راحتی با مخلوط کردن در وعده شیر صبح از ۷ روزگی گوساله‌ها تا از شیر گرفتن در ٤۲ روزگی تهیه می‌شود. گوساله‌ها به‌طور تصادفی بر اساس وزن بدن بین گروه‌های آزمایش تقسیم شدند تا دارای میانگین وزن بدن مشابه باشند. برای نگهداری از گوساله‌ها از باکس‌های انفرادی با ابعاد ۱ × ۲/۵ متر استفاده شد که روزانه توسط کاه تازه و خشک تمیز و بستر شدند. تغذیه ٤ کیلوگرم آغوز تا ۳ روزگی از طریق سر پستانک انجام شد و پس‌ازآن برنامه تغذیه شیر با ٤ کیلوگرم شیر کامل در روز در دو وعده غذایی توسط یک سطل برای هفته‌های اول و دوم، ٦ کیلوگرم در روز برای هفته‌های سوم و چهارم انجام شد. ٤ کیلوگرم روزانه برای هفته پنجم در دو وعده و ۲ کیلوگرم روزانه فقط برای وعده‌های صبحگاهی برای هفته ششم تا ٤۲ روزگی برای از شیرگیری انجام شد. شیر در ساعت ۸:۰۰ و ۱۸:۰۰ توسط سطل تغذیه شد و هیچ باقیمانده‌ای نداشت. گوساله‌ها به استارتر و آب کافی دسترسی داشتند و یونجه خردشده از ۲۰ روزگی به‌اندازه ۱۰ درصد جیره در استارتر گنجانده شد. جدول ۲-۱ اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره استارتر، علوفه یونجه و شیر را نشان می‌دهد.

جدول ۲-۱- اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیره استارتر ، یونجه و شیر (بر اساس ماده خشک)

اجزاء جیره (گرم در کیلوگرم)	استارتر	علوفه یونجه	شیر
ذرت (آسیاب شده)	٤٠٠	–	–
جو (آسیاب شده)	١٤٠	–	–
سبوس گندم	٥٠	–	–
کنجاله سویا	٣٨٠	–	–
نمک	٥	–	–
کربنات کلسیم	١٠	–	–
ماده معدنی و ویتامین	١٠	–	–
دی کلسیم فسفات	٥	–	–
ترکیب شیمیایی (گرم در کیلوگرم)			
ماده خشک	٩٠٢	٨٩٧	١٢٤
پروتئین خام	١٩٠	١٤٨	٣٣/١
عصاره اتری	٢٨/٥	٢٣/٤	٣٦/٨
الیاف حاصل از شوینده خنثی	١٥٦	٥٥٢	–
الیاف حاصل از شوینده اسیدی	٧٨	٣٧٨	–
کلسیم	٦	١٤	–
فسفر	٥/٥	٣	–

مکمل ویتامینه در هر کیلوگرم جیره شامل: ویتامین A : ۲۰۰۰۰۰ IU؛ vit C : ۳۰۰۰۰۰ IU؛ vit E: ۱۰۰۰۰ IU؛ vit K: 2میلی‌گرم، ضد اکسیدان ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم. مکمل معدنی موجود در هر کیلوگرم جیره شامل: مس: ۳۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ؛ آهن: ۱۰۰ میلی‌گرم ، روی: ۱۶۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم؛ منیزیم : ۹۰۰۰ میلی‌گرم ؛ ید: ۱۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ؛ کبالت : ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ؛ سلنیوم : ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم.

۲-۲-۲- عملکرد

برای تعیین عملکرد رشد در طول آزمایش گوساله‌ها به‌طور جداگانه قبل از وعده شیر صبحگاهی هر دو هفته در روزهای ١٤، ٢٨ و ٤٢ وزن شدند و تفاوت بین دو وزن به‌عنوان تغییر وزن در نظر گرفته شد. مصرف خوراک روزانه با کم کردن خوراک باقیمانده از خوراک ارائه‌شده ثبت شد.

۲-۲-۳- فراسنجه‌های خونی

نمونه‌گیری از خون ورید گردنی در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش، ۳ الی ٤ ساعت بعد از صبح در سه لوله جداگانه انجام شد (دو عدد با هپارین سدیم برای به دست آوردن نمونه‌های پلاسما و خون کامل ، دیگری بدون هپارین برای سرم، تهیه شده از نوین آزما پژوهان، اردبیل، ایران). نمونه‌های خون جمع‌آوری‌شده در ۳۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند و نمونه‌های پلاسما و سرم به‌دست‌آمده تا ۲۰ روز در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. در روز آزمایش نمونه‌ها در دمای اتاق ذوب‌شده و با استفاده از کیت‌های تجاری برای اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول، پروتئین کل، آلبومین و گلوبولین، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و گاما گلوتامیل ترانسفراز موردسنجش قرار گرفتند (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) . فعالیت‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در خون کامل تعیین شد (به ترتیب کیت‌های Ransel و Ransod از آزمایشگاه‌های Randox، انگلستان). وضعیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAS) با توجه به پروتکل سازنده توسط یک کیت موجود در بازار در نمونه‌های سرم اندازه‌گیری شد (otal Antioxidant Status, Randox Laboratories, UK). غلظت سرمی مالون دی آلدئید (MDA) بر اساس روش موره و رابرت (۱۹۹۸) تعیین شد.

۲-۲-٤- بررسی میکروارگانیسم‌های مدفوع

در روز ۳۰ نمونه مدفوع از تمام گوساله‌ها به مدت سه روز متوالی جمع‌آوری شد و در آزمایشگاه میکروبیولوژی (زیست فناوران آتیه تبریز، تبریز، ایران) ازنظر میکروارگانیسم‌های مدفوع ازجمله *E. coli*

مدفوع و تعداد لاکتوباسیلوس به ترتیب محیط کشت از طریق محیط کشت violet red bile (VRB) (Manafi, 2003) و آگار MRS (Schillinger and Holzapfel, 2003) تجزیه‌وتحلیل شد.

۲-۳- مرحله سوم تحقیق

بررسی اثر تغذیه مخلوط اسانس گیاهی، ویتامین C و ویتامین E به شکل امولسیفه شده بر عملکرد متابولیت‌های خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار.

۲-۳-۱- دام‌ها و جیره‌های آزمایشی

بدین منظور، ۵۰ گوساله نر هلشتاین از روز حدود ۷ تولد (میانگین وزن بدن ۳/٦ ± ۳۹/٦ کیلوگرم؛ از گله شیری کشت و صنعت و دام‌پروری مغان برای بررسی اثر تغذیه مخلوط اسانس گیاهی، ویتامین C و ویتامین E به شکل امولسیفه شده بر عملکرد متابولیتهای خونی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیرخوار انتخاب شدند. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱) گروه شاهد (CON)، ۲)گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس در روز بصورت امولسیون (بهترین سطح امولسیون مخلوط اسانس مطابق نتیجه مرحله دوم تحقیق) ، ۳) گوساله‌های دریافت‌کننده ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C در روز بصورت امولسیون، ٤) گوساله‌های دریافت‌کننده ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز بصورت امولسیون و ۵) گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس به همراه ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز بصورت امولسیون. گوساله‌های شاهد ٤ میلی‌لیتر از محیط امولسیون بدون هیچ‌گونه افزودنی دریافت کردند. برای همه گروه‌ها مقدار تعیین‌شده امولسیون تهیه‌شده به‌راحتی با مخلوط کردن در وعده شیر صبح از ۷ روزگی گوساله‌ها تا از شیر گرفتن در ٤۲ روزگی تهیه شد. گوساله‌ها به‌طور تصادفی بر اساس وزن بدن بین گروه‌های آزمایش تقسیم شدند تا دارای میانگین وزن بدن مشابه باشند.

مدیریت نگهداری و پرورش مشابه آزمایش اول بود. نحوه ساخت امولسیون‌های مختلف مطابق روش توضیح داده‌شده در بالا بود. فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده شامل تغییرات وزن، مصرف خوراک و فراسنجه‌های خونی طبق روش‌های توصیه داده‌شده در بالابود.

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

با توجه به تکرار شدن برخی از داده‌ها در طول زمان مانند مصرف خوراک و عملکرد، آنالیز این داده‌ها به‌صورت repeated measurement انجام شد. مدل آماری مورداستفاده برای آنالیز این داده‌ها به‌صورت زیر بود:

معادله ۱:

$$y_{ij} = \mu + T_i + P_j + T_i P_j + A_l(T_i) + b_1 Bw + e_{ijkl}$$

y_{ij} : متغیر وابسته

μ: میانگین کلی y

T_i: اثر تیمار آزمایشی

P_j: اثر زمان نمونه‌گیری

T_iP_j: اثر متقابل تیمار و زمان

$A_l(T_i)$: اثر تصادفی حیوان داخل تیمار

b_1: ضریب تابعیت متغیر وابسته از وزن بدن اولیه

Bw: وزن اولیه دام‌ها در هنگام شروع آزمایش

e_{ijkl}: اثر اشتباه آزمایشی

به‌منظور آنالیز داده‌ها از نـرم‌افـزار آمـاری SAS(۱۹۹۸) و Proc Mixed اسـتفاده گردیـد. هرکـدام از عوامـل موجود در مدل که اثر آن‌ها معنی‌دار نمی‌شد از مدل حذف می‌گردید.

مدل آماری مورداستفاده برای آنالیز سایر داده‌ها که تکرار در طول زمـان نداشـتند، بـه‌صـورت زیـر بـوده و به‌منظور آنالیز این داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS(۱۹۹۸) و Proc GLM استفاده گردید:

معادله ۲:

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + b_1 BW + e_{ij}$$

y_{ijkl} : متغیر وابسته

μ : میانگین کلی y

A_i : اثر جیره آزمایشی

b_1: ضریب تابعیت متغیر وابسته از وزن بدن اولیه

Bw: وزن اولیه دام‌ها در هنگام شروع آزمایش

e_{ij} :اثر اشتباه آزمایشی

به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از روش LSMEANS استفاده گردید و سطح $P<۰/۰۵$ به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- نتایج مرحله دوم تحقیق

۳-۱-۱- اثر بر عملکرد

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی آویشن، مریم‌گلی، کبر و اسطوخودوس بر عملکرد گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-۱ نشان داده‌شده است. مطابق این نتایج تغذیه اسانس گیاهان موردمطالعه تأثیر معنی‌داری بر وزن نهایی، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک نداشت. هرچند مصرف این اسانس به‌طور خطی سبب افزایش وزن زنده در روزهای ١٤ تا ٢٨ (P=٠/٠٢٣) و ٢٨ تا ٤٢ (P=٠/٠٠٤) شد. در هر دو بازه سنی بیشترین افزایش وزن روزانه در گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس مخلوط گیاهان داروئی بود (به ترتیب ٤٣٧ و ٦٩٣ گرم در روز). همچنین مصرف این اسانس گیاهی در هیچ‌کدام از سطوح مصرفی تأثیری بر ضریب تبدیل غذایی گوساله‌های هلشتاین نداشت.

در ابتدا متخصصان تغذیه نشخوارکنندگان به دلیل نقش اسانس‌های گیاهی در کاهش خوش‌خوراکی برخی از گونه‌های گیاهی درصدد مطالعه آن‌ها در تغذیه دام علاقه‌مند بودند(بنچار و همکاران، ۲۰۰۷). اما بعدها اثر بارز مصرف این اسانس‌های گیاهی درنتیجه انجام مطالعات متعدد به اثبات رسید. بنچار و همکاران(٢٠٠٦) گاوهای شیری را روزانه با ۷۵۰ میلی‌گرم یا ۲ گرم مخلوط اسانس گیاهان تغذیه کرده هیچ تغییری در میزان مصرف ماده خشک، تولید شیر و اجزای شیر مشاهده نکردند. در پژوهشی دیگر یانگ و همکاران (٢٠٠٦) مشاهده کردند که افزودن اسانس سیر[1] (۵ گرم در روز) و اسانس ارس کوهی (۲ گرم در روز) به جیره‌های گاو شیری، تأثیری بر مصرف ماده خشک، تولید شیر یا ترکیب شیر نداشت. در یک مطالعه بنچار و همکاران (٢٠٠٦) عملکرد رشد گاوهای گوشتی تغذیه‌شده با جیره غذایی پایه سیلو را با مکمل ۲ یا ٤ گرم در روز مخلوط اسانس گیاهی تجاری از شامل ترکیبات تیمول، اوژنول، وانیلین و لیمونن

[1] Allium sativa

ارزیابی کرد. نتایج نشان داد که مصرف ماده خشک و میانگین افزایش وزن روزانه با مصرف این مخلوط ترکیبات اسانس گیاهی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. بااین‌حال نسبت افزایش وزن بدن به مصرف ماده خشک و به حداکثر رسیدن بازده خوراک تحت تأثیر قرار گرفت. در مطالعه‌ای دیگر وکیلی و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی اثر مصرف اسانس آویشن و دارچین بر گوساله‌های هلشتاین پرداخته و اثر معنی‌داری را برافزایش وزن و مصرف خوراک مشاهده نکردند. کاردوزو و همکاران (۲۰۰٦) هیچ تغییری در مصرف ماده خشک هنگام مکمل کردن جیره با مخلوط ٦۰۰ میلی‌گرم در روز سینامالدئید و ۳۰۰ میلی‌گرم در روز ائوژنول در تلیسه‌های تغذیه‌شده با جیره با کنسانتره بالا مشاهده نکرد. در یک مطالعه با بره‌های در حال رشد، چاوز و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که افزودن کارواکرول یا سینامالدئید (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک جیره) هیچ تأثیری بر مصرف ماده خشک در جیره حاوی کنسانتره جو یا ذرت نداشت. عدم تأثیر اسانس گیاهی بر مصرف خوراک در چندین مطالعه علاوه بر آنچه ذکر شد ازجمله مطالعات انجام‌شده توسط تاسول و همکاران (۲۰۰۹) و تیجر و کرائوس (۲۰۱۱) نیز گزارش‌شده است. اما همچنین سایر مطالعات نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی می‌توانند سبب کاهش مصرف ماده خشک شوند، ازجمله این مطالعات می‌توان به مطالعات کاردوزو و همکاران (۲۰۰٦) و فاندینو و همکاران (۲۰۰۸) اشاره کرد. جشاری و همکاران (۲۰۱۷) در تحقیقی افزایش در مصرف ماده خشک (شیر و استارتر) را در گوساله‌های دریافت‌کننده اسانس مخلوط گیاهان داروئی را مشاهده کردند. تامسن و ریندسیگ (۱۹۸۰) نشان دادند که افزودن ماده‌ای به جایگزین شیر و جیره غذایی که سبب بهبود عطروطعم شود، ممکن است اشتهای گوساله‌ها را افزایش دهد. نتایج ما نشان داد که مکمل کردن جیره غذایی با اسانس‌های گیاهی هیچ تأثیر سوئی بر مصرف خوراک گوساله‌ها نداشت. پیشنهادهایی وجود دارد که اسانس‌های گیاهی آویشن می‌تواند باعث بهبود هضم غذا شود. ممکن است دلیل آن این باشد که ادویه‌ها و گیاهانی که از آن‌ها اسانس تهیه می‌شود، بر هضم غذا تأثیر مثبت دارند و تعدادی از این مطالعات تأثیر این اسانس‌ها یا اجزای فعال آن را

بر ترشح نمک صفراوی گزارش کرده‌اند (لی، ۲۰۰۲؛ مللر، ۲۰۰۰). اثر مثبت مصرف اسانس گیاهان برافزایش وزن می‌تواند به دلیل اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی کاملاً مستند و احتمالاً حالت تقویت‌کنندگی هضم توسط ترکیبات فنلی موجود در این گیاهان باشد (گلچین و همکاران، ۲۰۰٤؛ باسماجی اوغلی و همکاران، ۲۰۱۰).

چندین مطالعه اثر مثبت مصرف اسانس و یا عصاره اسطوخودوس را نیز برافزایش وزن پرندگان گزارش نمودند.کوچوک ییلماز و همکاران (۲۰۱۷) طی بررسی اثر مصرف اسطوخودوس بر عملکرد جوجه گوشتی دریافتند که مصرف ۲٤ میلی‌گرم در کیلوگرم اسانس گیاه اسطوخودوس سبب افزایش وزن در جوجه گوشتی شد. این در حالی بود که سایر فراسنجه‌هایفراسنجه عملکردی تحت تأثیر مصرف اسانس موردنظر قرار نگرفته بودند. جشاری و همکاران (۲۰۱۷) نیز با مصرف مخلوط عصاره‌های گیاهی در تغذیه گوساله افزایش در افزایش وزن روزانه را مشاهده کردند. پیشنهادشده است که اسانس‌های گیاهی می‌توانند بر اکوسیستم جمعیت میکروبی دستگاه گوارش تأثیرگذار باشند (بنچار و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین، بهبود سلامت دستگاه گوارش به‌عنوان یک اثر مکمل‌های اسانس گیاهی ممکن است سبب قابلیت دسترسی بیشتر مواد مغذی ضروری برای جذب در روده شده و درنتیجه عملکرد رشد را افزایش می‌دهد (فرنز و همکاران، ۲۰۱۰). تحریک بافت‌های اپیتلیال و همچنین افزایش ترشح مخاط و آنزیم‌ها از دیگر مکانیسم‌های عمل ممکن اسانس‌های گیاهی بر عملکرد روده است که منجر به هضم مؤثرتر مواد مغذی و درنتیجه جذب مواد مغذی بهتری می‌شود (پلاتل و اسرینیواسان، ۲۰۰٤). بر اساس آنچه ذکر شد و با توجه به نتایج مطالعات مختلف افزایش عملکرد ناشی از مصرف گیاهان دارویی می‌تواند به علت‌های مختلف ازجمله حضور ترکیبات شیمیایی مفید در گیاهان دارویی که منجر به بهبود فعالیت گوارشی و بهره‌وری از مواد خوراکی مصرفی شده و همچنین عوامل مزاحم مانند میکروارگانیسم‌های مضر موجود در دستگاه گوارش و مواد خوراکی را از بین می‌برند، باشد. بر همین اساس می‌توان این‌گونه جمع‌بندی کرد که اسانس‌های گیاهی از

طریق دو سازوکار اصلی تأثیر بر جمعیت میکروبی روده و آنزیم‌های هضمی می‌توانند سبب بهبود ضریب تبدیل شوند. اما عوامل دیگری مانند شرایط پرورش، الگوی اسانس‌های گیاهی گیاهان مصرفی و سطح مصرف این اسانس‌ها نیز می‌توانند بر اثربخشی این ترکیبات را تأثیرگذار بوده و این به‌عنوان دلیل تفاوت در نتایج مشاهده‌شده در آزمایش‌های مختلف است (امیدی‌کیا و همکاران، ۱۳۹۳).

در مطالعه حاضر ، ترکیب اسانس‌های به‌دست‌آمده از چهار گیاه دارویی به‌صورت امولسیون روغن در آب و محصولی محلول در شیر ساخته‌شده و از طریق شیر تغذیه می‌شود تا از شکمبه عبور کرده و همین امر منجر به رسیدن اسانس بیشتری به روده می‌شود. استفاده از سیستم مبتنی بر امولسیون برای رساندن اسانس گیاهی از طریق شیر، نه‌تنها از تخریب شکمبه فرار می‌کند، بلکه باعث افزایش جذب اسانس گیاهی مصرفی می‌شود. اختلاط ترکیبات زیست فعال لیپوفیلی مانند اسانس گیاهی مشتق شده در امولسیون یک روش سودمند برای افزایش خوش‌خوراکی، جذب و فعالیت زیستی آن‌ها است (مک کلمنتس، ۲۰۰۷). بنابراین، اثرات مثبت مشاهده‌شده مخلوط اسانس‌های گیاهی آماده‌شده برافزایش وزن ممکن است به دلیل جذب زیاد و اثربخشی اسانس‌های گیاهی تغذیه‌شده در گوساله‌ها باشد.

جدول ۳-۱- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر عملکرد گوساله‌های هلشتاین

	[1]CON	100E	200E	300E	SEM	سطح معنی داری مقایسات		
						خطی	درجه دوم	درجه سوم
وزن اولیه (کیلوگرم)	۳۹/۹	۳۹/۹	٤۱/۲	٤۰/٦	۱/۳۲	۰/٥٦۹	۰/۸۲۲	۰/٥۹۲
وزن نهایی (کیلوگرم)	٥۹/۱	٦۰/٤	٦۰/۷	٦۲/۳	۱/٥۰	۰/۱٤۸	۰/۹۳٤	۰/۷٦۲
افزایش وزن روزانه (گرم در روز)								
دو هفته اول	۳٤۳/۳	۳٥٤/۰	۳۱۱/۲	۳٥۰/۰	۲٤/٥۸	۰/۸۳۷	۰/٥۷۲	۰/۲۲۸
دو هفته دوم	۳۹٤/۱	٤۲۳/۳	٤۰۸/٥	٤۷٦/۸	۲۱/۹۹	۰/۰۲۳	۰/۳٦۱	۰/۱۹٦
دو هفته سوم	٦٤۳/۳	٦۹۸/۳	٦۹٥/۸	۷۳۳/٥	۱۹/٤۱	۰/۰۰٤	۰/٦۳۹	۰/۲۷۳
کل دوره	٤٤٦/۱	٤۷٥/۸	٤٤٥/٤	٥۰۳/۹	۹/۳٦	۰/۲٥۱	۰/۷۸٥	۰/۳۸۲
مصرف خوراک (گرم در روز)								
دو هفته اول	۱۱۷/۳	۱۰۸/۸	۱۱۱/۱	۱۱۲/٥	۷/٥۸	۰/۷۲۰	۰/٥۱۹	۰/۷۳۰
دو هفته دوم	۲۹۹/۱	۲۹۱/۸	۳۱۳/٥	۳۱۷/۳	۱٥/۹٥	۰/۲۹۷	۰/۷۰٤	۰/٥٤۳
دو هفته سوم	۷۰۱/٥	۷٤۲/۷	۷۳۰/۳	۷٤۲/٥	۲۷/۳٦	۰/۳۸٤	۰/٥۸٥	۰/٥۳۱
کل دوره	۳۷۳/۰	۳۸۱/۱	۳۸٤/٦	۳۹۱/٤	٤۸/۹۸	۰/۷۹٥	۰/۹۷۸	۰/۹۷۳
ضریب تبدیل خوراک	۰/۸٤	۰/۸۱	۰/۸٥	۰/۷۸	۰/۰۳۱	۰/۲۲۹۰	۰/٦٤۲٥	۰/۱٦٤۱

[1]گروه‌های آزمایشی: CON = گروه کنترل، 100E = گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 200E = گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 300E= گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز

SEM= میانگین خطای استاندارد

۳-۱-۲- اثر بر متابولیت‌های خونی

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-۲ نشان داده شده است. مطابق این نتایج تغذیه اسانس گیاهان مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری بر غلظت گلوکز، آلبومین و کلسترول خون نداشت. درحالی‌که تأثیر آن بر غلظت پروتئین کل (P=۰/۰۰۹)، تری گلیسیرید (P=۰/۰۰۷) و نیتروژن اوره‌ای خون (P=۰/۰۰۱) در روز ۱۵ معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین پروتئین کل سرم خون در تیمار دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم اسانس گیاهان داروئی مشاهده شد. بیشترین غلظت تری گلیسیرید خون در گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس گیاهان داروئی و بیشترین غلظت نیتروژن اوره‌ای نیز در گوساله‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم اسانس گیاهی مشاهده شد. بررسی تأثیر مصرف اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر غلظت آنزیم‌های کبدی نیز نشان داد که غلظت آلانین آمینو ترانسفراز (P=۰/۰۰۳)، آسپارتات ترانس آمیناز (P=۰/۰٤٥) و گاماگلوتامیل ترانسفراز (P=۰/۰۰۱) در دوره ۱۵ روزه دوم (۳۰ روز) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. هرچند غلظت گاماگلوتامیل ترانسفراز در ۱۵ روز اول نیز معنی‌دار بود (P=۰/۰۰۱). غلظت آنزیم‌های کبدی آسپارتات ترانس آمیناز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم در روز مخلوط اسانس گیاهی کمترین میزان بود. جشاری و همکاران (۲۰۱۷) هم‌راستا با نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که مصرف مکمل اسانس مخلوط گیاهان داروئی در گوساله‌ها هیچ تأثیری بر غلظت گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول و پروتئین سرم نداشت. اندازه‌گیری غلظت پروتئین، میزان آلبومین و گلوبولین سرم برای تشخیص بیماری‌های متعدد و اختلالات عملکرد ارگانیسم‌ها بسیار مهم است. این در حالی است که چیافالو و همکاران (۲۰۱۲) در پژوهشی افزایشی را در غلظت پروتئین سرم در اثر مصرف عصاره رزماری مشاهده کردند. به‌عبارتی‌دیگر اسانس گیاهی ممکن است پروتئولیز شکمبه‌ای را افزایش داده و پروتئین میکروبی را کاهش داده و به دنبال آن تولید پروتئین میکروبی نیز افزایش می‌یابد (کاردوزو و همکاران، ۲۰۰۵). از طرفی، تولید

بیش از نیاز میکروبی نیتروژن آمونیاکی شکمبه، از طریق دیواره شکمبه به خون پورتال جذب می‌شود و بیشتر آن در کبد به اوره تبدیل می‌شود. بنابراین، سنتز اوره در کبد از آمونیاک جذب‌شده از شکمبه انجام می‌شود. درنتیجه، غلظت نیتروژن اوره در خون بسیار با غلظت نیتروژن آمونیاک شکمبه ارتباط دارد (دیویدسون و همکاران، ۲۰۰۳). مصدق و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند که افزودن اسانس مریم‌گلی می‌تواند منجر به کاهش کلسترول جوجه‌های گوشتی شود و همچنین، افزودن مریم‌گلی به‌طور معنی‌داری میزان LDLرا کاهش داد که عامل بسیار مهمی در ارتقا کیفیت گوشت برای مصرف‌کننده بوده و سبب جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی می‌شود. در تحقیقی دیگر، نوبخت (۲۰۱۲) کاهش در سطح گلوکز و تری گلیسیرید خون را با استفاده از نعناع کوهی گزارش کردند. در مطالعات انجام‌گرفته توسط نینامیا (۲۰۰٤) بر روی موش نشان داده شد که مریم‌گلی با داشتن ترکیبات ترپنی سبب مهار فعالیت لیپاز پانکراس شده و به‌طور قابل‌توجهی میزان تری گلیسیرید خون را کاهش می‌دهد. رسولی و همکاران (۲۰۱۹) نیز در تحقیقی اثر مصرف اسانس مریم‌گلی را بر فراسنجه‌های خونی جوجه گوشتی شامل LDL-کلسترول، کلسترول کل، تری‌گلیسیرید و اوره معنی‌دار و کاهنده گزارش کردند. این در حالی بود که غلظت HDL-کلسترول با مصرف اسانس گیاه مریم‌گلی افزایش یافت. یورتسون و همکاران (۲۰۱۸) از غلظت‌های کم (۲/۵ ، ۵ و ۷/۵ میلی‌لیتر در کیلوگرم) عصاره مریم‌گلی استفاده کرده و هیچ تأثیری بر میزان تری گلیسیرید، کلسترول تام، HDL و LDL خون کبک مشاهده نکردند. بااین‌حال آن‌ها اظهار داشتند که سطح LDL با افزایش گام‌به‌گام دوز عصاره مریم‌گلی به‌طور خطی کاهش می‌یابد. وکیلی و همکاران (۲۰۱۳) نیز با مصرف اسانس گیاه آویشن در گوساله هلشتاین هیچ‌گونه اثر معنی‌داری در غلظت گلوکز، کلسترول، اوره و آنزیم‌های کبدی مشاهده نکردند. غلظت بتاهیدروکسی بوتریک اسید خون نیز تحت تأثیر مصرف اسانس گیاه آویشن قرار نگرفت، که از این نظر با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا قرار دارد. گزارش‌شده است که غلظت برخی از متابولیت‌های خون مانند تری گلیسیرید می‌تواند تحت تأثیر مکمل اسانس گیاهی از طریق تغییر در

مصرف خوراک باشد (یانگ و همکاران ، ۲۰۱۰) و عدم‌تغییر در مقدار تری گلیسیرید یا کلسترول ممکن است به عدم جایگزینی ماده خشک مصرفی با اسانس گیاهی کمک کند. هم‌راستا با نتایج تحقیق حاضر در تحقیق جشاری و همکاران (۲۰۱۷) نیز میزان آسپارتات ترانس آمیناز سرم نیز تحت تأثیر مصرف اسانس گیاهان داروئی قرارگرفته و کاهش یافت. کلینکون و همکاران (۲۰۱۲) تأکید داشتند که آنزیم آسپارتات ترانس آمیناز در بافت‌های مختلف وجود دارد و یک فاکتور حساس جهت شناسایی آسیب عضله است و هنگام وقوع آسیب بافت کبدی فعالیت آنزیم مذکور در سرم افزایش می‌یابد. آن‌ها گزارش کردند که غلظت مناسب آسپارتات ترانس آمیناز در خون گوساله در سن ۸ هفتگی حدود ۱۰/۲±۴۰/۳ واحد در لیتر است. در تحقیق حاضر غلظت آسپارتات ترانس آمیناز در ۳۰ روزگی در گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی کمتر از سایر گروه‌ها و به‌ویژه گروه شاهد بود. الکیش و همکاران (۲۰۱۷) نیز در پژوهشی اثر مصرف اسانس گیاه مریم‌گلی را بر آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز و آسپارتات ترانس آمیناز معنی‌دار مشاهده نکردند. محققین مذکور اذعان داشتند که تنوع در نتایج مطالعات مختلف را می‌توان با تغییر در تکنیک‌های استخراج و تغییر درروش های رقت سازی و غلظت اجزای فعال اسانس گیاهی توضیح داد.

جدول ۳-۲- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر متابولیت‌های خونی گوساله‌های هلشتاین

	CON[1]	100E	200E	300E	SEM	سطح معنی داری مقایسات		
						خطی	درجه دوم	درجه سوم
گلوکز(میلی‌گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	۱۰٤/۲	۱۰۸/٤	۱۰۹/٤	۱۰۵/۳	۱۰٤/۲	۰/۸٦٦	۰/٤٦۹	۰/۹٤۰
۳۰ روز	۸۲/۵	۸٦/۲	۸٤/٤	۸۲/۳	۸۲/۵	۰/۸٤٤	۰/۲۹۱	۰/٦۷۰
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	٦/۲	۵/۹	٦/۵	٦/۱	۰/۱۳	۰/۷۳۳	۰/٦۹٦	۰/۰۰۹
۳۰ روز	٦/۲	٦/۱	٦/۳	٦/۱	۰/۱۲	۰/۹۲۸	۰/۹٦۷	۰/۱۳۲
آلبومین (گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	٤/۳	٤/۰	٤/۲	٤/۱	۰/۱۱	۰/۵٦۳	۰/٤۹۱	۰/۱۸۲
۳۰ روز	٤/۲	٤/۱	٤/۲	٤/۱	۰/۱۲	۰/۵٦۰	۰/٤۸۹	۰/۱۷۸
تری گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	۹/٦	۱۱/۱	۱۲/۱	۱٤/٦	۱/۲٦	۰/۰۰۷	۰/٦۹۵	۰/۷۲۹
۳۰ روز	۱۳/۳	۱۳/۲	۱۵/۳	۱۵/۷	۰/۹۲	۰/۰۲۹	۰/۷۸٦	۰/۳٤۷
کلسترول(میلی‌گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	۱۱۸/۱	۱۱٤/۳	۱۲۲/۱	۱۲٤/۹	۹/۷۳	۰/۵۲۱	۰/۷۳٦	۰/۷۰۵
۳۰ روز	۹٦/۲	۱۰٤/۳	۱۰۰/۸	۹۵/٤	۵/۵۱	۰/۷۸٤	۰/۲۰۰	۰/۷۳۵
بتاهیدروکسی بوتریک اسید (میلی‌گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	۰/۰۹	۰/۰۷	۰/۰۹	۰/۰۸	۰/۰۱۲	۰/۷٦۷۷	۰/۸٤۵٤	۰/۳۷٦٦
۳۰ روز	۱/۱۵	۱/۱۲	۱/۱٦	۱/۱۲	۰/۰۲۹	۰/٦۹۲۵	۰/٦۷٦۵	۰/۲٦۵۲
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی لیتر)								
۱۵ روز	۲۱/۲	۱۷/۵	۱۷/۳	۱٦/۷	۰/۸۹	۰/۰۰۱	۰/۰۹۰	۰/۳۳٤
۳۰ روز	۲۹/۱	۲۵/٦	۲۸/۰	۲۹/۳	۱/۳۵	۰/٦۲۲	۰/۰۸٤	۰/۲۵٤
آلانین آمینو ترانسفراز (واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر)								
۱۵ روز	۹/٦	۹/۱	۹/۰	۹/٤	۰/۸۵	۰/۸۵۵	۰/٦۰۰	۰/۹۷۹
۳۰ روز	۱۳/٦	۱۳/۳	۱۲/٤	۱۱/۱	۰/۵۸	۰/۰۰۳	۰/٤۱۳	۰/۹۳٦
آسپارتات ترانس آمیناز (واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر)								
۱۵ روز	٤۰/۳	۳۹/۲	٤۰/۷	۳۸/۳	۲/۷۲	۰/۷۱۳	۰/۸۱۲	۰/۵۹٦
۳۰ روز	۵٦/۳	٤۷/۲	۵۱/٦	٤٦/۳	۲/۷٦	۰/۰٤۵	۰/٤۹۵	۰/۰٦۷
گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر)								
۱۵ روز	۳٤/۵	۳٤/۹	۳۰/۳	۲۷/۵	۱/٤۷	۰/۰۰۱	۰/۲۸٤	۰/۲۹۱
۳۰ روز	٤۰/۵	۳٤/۵	۳۵/۳	۲۷/۷	۱/۸۳	۰/۰۰۱	۰/٦٦۳	۰/۰۷۱

[1]گروه‌های آزمایشی: CON = گروه کنترل، 100E = گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 200E = گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 300E= گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز

۳-۱-۳- اثر بر فراسنجه‌های ایمنی

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر فراسنجه‌های ایمنی گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-۳ نشان داده شده است. مطابق این نتایج غلظت گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. اما در ۱۵ روز اول دوره آزمایش غلظت سوپراکسید دیسموتاز (P=۰/۰۵٤) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (P=۰/۰۰۰۱) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیرتیمارهای آزمایشی قرار گرفت. غلظت مالون دی آلدئید نیز در هر دو دوره ۱۵ و ۳۰ روزه تحت تأثیر تیمار آزمایشی قرار گرفت. غلظت سوپراکسید دیسموتاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل در گروه شاهد کمترین و غلظت مالون دی آلدئید نیز در گروه شاهد بیشترین بود.

آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زا مانند سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز اولین خطوط دفاعی در برابر گونه‌های واکنش اکسیژن هستند و افزایش سطح آن‌ها نشان‌دهنده استرس اکسیداتیو کمتر یا مصرف آنتی-اکسیدان بیشتری است (اوه و همکاران، ۲۰۱۷). ، افزایش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پلاسما تأییدی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره یا اسانس مورداستفاده خواهد بود. ترکیبات اسانس گیاهی در رقابت با اجزای میزبان برای شرکت در واکنش‌های خنثی کردن واکنش زنجیره‌ای رادیکال آزاد هستند، بنابراین انتشار زنجیره اکسیداسیون متوقف می‌شود (آموراتی و همکاران، ۲۰۱۳). علاوه بر این، اسانس‌های گیاهی به شکل امولسیون میزان جذب بالاتری دارند که باعث افزایش نرخ جذب و ظهور و اثرگذاری در خون می‌شود (مک کلمنتس و همکاران، ۲۰۰۷). غلظت مالون دی آلدئید به دلیل اینکه یک محصول نهایی پراکسیداسیون در بدن است موردبررسی قرار گرفت (لاتا و همکاران، ۲۰۰٤). غلظت مالون دی آلدئید به‌طورکلی برای تخمین درجه پراکسیداسیون لیپید کنترل می‌شود (دیوی و همکاران ، ۲۰۰۵). ازاین‌رو، کاهش غلظت مالون دی آلدئید شاخص کاهش تخریب اکسیداتیو چربی‌ها است. علاوه بر این، چندین مطالعه دیگر نیز نشان داده‌اند که اسانس گیاهان دارویی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان هستند و بنابراین از

پراکسیداسیون لیپید جلوگیری می‌کنند (کشوری و همکاران، ۲۰۱۳). خصوصیات محافظتی ترکیبات فنولیک گیاهان دارویی بر پراکسیداسیون چربی‌ها بیشتر ناشی از اثرات متقابل خاص آن‌ها با متابولیسم چربی است. حسن و همکاران (۲۰۲۰) در مطالعه‌ای گزارش کردند که غلظت مالون دی آلدئید پلاسما با مصرف مکمل عصاره برگ اکالیپتوس کاهش یافت، درحالی‌که سطح گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز دارای اثر درجه دوم بودند. گویدیر (۲۰۰۲) اشاره کرد که اثرات اسانس‌های گیاهی می‌تواند به‌واسطه اکسیداسیون پایین‌تر اسیدآمینه، افزایش فعالیت آنزیم‌های مسیر هضمی و افزایش مصرف خوراک به علت خوش‌خوراکی جیره باشد. همچنین گیاهان دارویی و ترکیبات فعال آن‌ها می‌توانند به‌عنوان محرک اشتها، محرک تولید بزاق، افزایش تولید شیره معدی و پانکراس و ویژگی آنتی‌اکسیدانی استفاده شوند. شان و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که یک همبستگی قوی بین غلظت ترکیبات فنولیک و فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی و بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی وجود دارد. بر اساس نتایج مطالعات عصاره‌های گیاه کَبَر منابع خوبی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که می‌توانند سیستم دفاعی موجودات زنده را در برابر بیماری‌های مختلف فعال و بهبود دهند (گول و همکاران، ۲۰۱۵). بر همین اساس طی مطالعه‌ای افزایش غلظت سوپراکسید دیسموتاز گوشت سینه در پرندگان تغذیه‌شده با اسانس گیاه اسطوخودوس نشان داد که پلی‌فنول‌های گیاهی توانایی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارند (کوچوک ییلماز و همکاران، ۲۰۱۷). ترکیبات فنولی با اسانس گیاه اسطوخودوس می‌توانند مسئول اثرات آنتی‌اکسیدانی باشند. بااین‌حال، اثرات هم‌افزایی ترکیبات اسانسی مختلف نیز می‌تواند به فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمک کنند. تفاوت در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مطالعات مختلف ممکن است به دلیل تفاوت در ترکیب و روش استفاده‌شده برای اسانس گیری باشد (بویاها و همکاران، ۲۰۱۷). اساوا و کاتو (۲۰۰۷) نشان دادند که منابع گیاهی می‌توانند بافت‌ها را از آسیب رادیکال‌های آزاد حفظ کنند و مریم‌گلی به علت داشتن ترکیبات فعال دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است (اوساوا و کادو، ۲۰۰۵). کریستوا و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که نوشیدن مریم‌گلی سبب بهبود وضعیت هپاتوسیت‌ها و

بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد شده و همین امر منجر به افزایش سلامت کبد می‌شود. آویشن نیز دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که سبب حفظ بافت کبد شده است (ال-نکتی و همکاران، ۲۰۱۱). تیمول به‌عنوان یکی از مواد غالب تشکیل‌دهنده آویشن دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که در کبد از تولید کربن تتراکلرید ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری می‌کند، پس آویشن فعالیت‌های اکسیداتیو را کنترل کرده و از آسیب کبد توسط رادیکال‌های آزاد جلوگیری نموده و از ترشح غیرمنتظره آنزیم‌های کبدی جلوگیری می‌کند و سبب حفظ رنگ و بافت کبد می‌شود (راسکویچ و همکاران، ۲۰۱۵). گزارش‌شده است که اسانس‌های گیاهی تعادل ردوکس را در اندام‌های مختلف بهبود می‌بخشند (پلاچا و همکاران، ۲۰۱٤) و آسیب اکسیداتیو ناشی از عوامل استرس‌زای مختلف فیزیولوژیکی را کاهش می‌دهند (زنگ و همکاران، ۲۰۱٤).

جدول ۳-۳- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر فراسنجه‌های ایمنی گوساله‌های هلشتاین

	CON[1]	100E	200E	300E	SEM	سطح معنی داری مقایسات		
						خطی	درجه دوم	درجه سوم
گلوتاتیون پراکسیداز U/g Hb								
۱۵ روز	۵۷/۹	٦۲/٤	٦۰/۱	٦۱/۹	۲/۷۵	۰/٤۳۳	۰/٦۱۸	۰/۳۹۱
۳۰ روز	٦۰/۸	٦۲/٤	٦٦/۱	٦۳/۸	۲/۳۰	۰/۲۳۳	۰/٤۲۹	۰/٤۳۵
سوپراکسید دیسموتاز U/g Hb								
۱۵ روز	۱٦٤۲	۱۷۳۸	۱۷۸۸	۱۷٦۰	٤۵/۳٦	۰/۰۵٤	۰/۱۸۰	۰/۸۷۵
۳۰ روز	۱۷۲۲	۱۸۰۸	۱۷٤۸	۱۸۳۸	۳۹/۸۹	۰/۱۱۵	۰/۹٦۰	۰/۱۰۵
مالون دی‌آلدئید mmol/L								
۱۵ روز	۱/۹۷	۱/۷۳	۱/۵۷	۱/۵٦	۰/۱۱٦	۰/۰۱۱۲	۰/۳۲۹۳	۰/۸۹٤٤
۳۰ روز	۲/۱۷	۱/۷۳	۱/٦۳	۱/٦۵	۰/۱۲۰	۰/۰۰٤۵	۰/۰٦٤۰	۰/٦۸۵۱
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل mmol/L								
۱۵ روز	۰/۱۰	۰/۱٤	۰/۱۳	۰/۱۵	۰/۰٦۵	۰/۰۰۰۱	۰/۱۱۳۰	۰/۱٦٤۲
۳۰ روز	۰/۳۱	۰/۳۵	۰/۳٤	۰/٤۸	۰/۰٦۲	۰/۰۷۷۷	۰/۳٤۲۸	۰/۵۸۷۸

[1]گروه‌های آزمایشی: CON = گروه کنترل، 100E = گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 200E = گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 300E= گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز

SEM= میانگین خطای استاندارد

۳-۱-٤- اثر بر قابلیت هضم خوراک

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر بر قابلیت هضم خوراک گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-٤ نشان داده‌شده است. مطابق این جدول اثر مصرف هیچ یک از سطوح اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر قابلیت هضم ماده خشک، الیاف حاصل از شوینده خنثی، پروتئین خام و عصاره اتری معنی‌دار مشاهده نشد.

جدول ۳-٤- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر قابلیت هضم خوراک

	CON[1]	100E	200E	300E	SEM	سطح معنی داری مقایسات		
						خطی	درجه دوم	درجه سوم
ماده خشک (درصد)	٦٥/٤	٦٦/٣	٦٧/٤	٧٠/١	١/١	٠/٧٤٩	٠/٨٦٨	٠/٨٤١
الیاف حاصل از شوینده های خنثی(درصد)	٤٥/٩	٤٥/٠٥	٤٦/٤	٤٨/٩	٢/٥	٠/٧٢٦	٠/٦٩٥	٠/٨٤٥
پروتئین خام(درصد)	٦٧/٦	٧٢/٦	٧٣/٣	٧٢/٩	١/٦	٠/١١٦	٠/٤١٩	٠/٥٢١
عصاره اتری(درصد)	٥١/٠	٥٢/٥	٥٣/٩	٥٠/٧	٣/١	٠/٣٤٥	٠/٥٤١	٠/٤٨٩

[1]گروه‌های آزمایشی: CON = گروه کنترل، 100E = گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 200E = گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 300E= گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز

SEM= میانگین خطای استاندارد

۳-۱-۵- اثر بر جمعیت باکتری‌های مدفوع

نتایج مربوط به اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر جمعیت باکتری‌های *E-coli* و *Lactobacillus* مدفوع گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-۵ نشان داده‌شده است. مطابق این نتایج جمعیت باکتری‌های مذکور تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به‌طوری‌که جمعیت باکتری *E-coli* در مدفوع گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز کمتر از سایر گروه‌ها بود (P=۰/۰۰۰۱). جمعیت *Lactobacillus* نیز در مدفوع گروه شاهد بیشترین و در گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز کمترین بود (P=۰/۰۳۵۷).

فعالیت‌های ضد میکروبی اسانس‌های گیاهی در برابر طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها ازجمله باکتری-های گرم مثبت و گرم منفی نشان داده‌شده است (چائو و همکاران، ۲۰۰۰). این فعالیت اسانس‌های گیاهی به تعدادی از ترکیبات ترپنوئید، فنول‌ها و همچنین ترکیبات شیمیایی و گروه‌های عملکردی موجود در

اسانس گیاهی، نسبت‌هایی که در آن‌ها وجود دارد و فعل‌وانفعالات بین آن‌ها نسبت داده‌شده است (دورمن و دینس، ۲۰۰۰).اثرات افزایشی، آنتاگونیستی و هم‌افزایی بین اجزا اسانس‌های گیاهی نیز مشاهده‌شده است (بورت، ۲۰۰٤). لامبرت و همکاران (۲۰۰۱) با ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس گیاه داروئی و دو ماده اصلی سازنده آن‌ها یعنی تیمول و کارواکرول در برابر استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مشاهده کردند که ترکیبی از تیمول و کارواکرول فعالیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به زمانی که به‌تنهایی در ترکیب حضور دارند نشان می‌دهند و اثر بازدارندگی اسانس پونه کوهی عمدتاً به دلیل اثر ضد باکتری هم‌زمان این دو ترکیب است. کانیلاک و موری (۲۰۰۱) به مقایسه حداقل غلظت بازدارندگی اجزای ترکیبات اسانس صنوبر با اسانس کامل صنوبر پرداخته و نتایج آن‌ها نشان داد که تک‌تک اجزای اسانس صنوبر فعالیت کمتری دارند و فعالیت ضد میکروبی اسانس کامل صنوبر نتیجه اثرات هم‌افزایی بین اجزای موجود در آن است. به‌احتمال‌زیاد فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی به دلیل یک عملکرد خاص نیست، بلکه چندین هدف را در سلول باکتریایی درگیر می‌کند (بورت، ۲۰۰٤). آکاموویچ و بروکر (۲۰۰۵) اظهار داشتند که متابولیت‌های ثانویه گیاهی با طیف گسترده‌ای از اجزای سلولی برهم‌کنش دارند و می‌توانند پاسخ را متناسب با اهداف خود تعدیل کنند، این ترکیبات توانایی تعدیل تعداد زیادی از اهداف سلولی را دارند. اعتقاد بر این است که فعالیت‌های ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی به فرآیندهای مرتبط با غشای سلول باکتریایی، ازجمله انتقال الکترون، شیب یون، انتقال پروتئین، فسفوریلاسیون و سایر واکنش‌های وابسته به آنزیم بستگی دارد (دورمن و دینز، ۲۰۰۰). هلندر و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که تیمول اسانس آویشن و کارواکرول اسانس پونه کوهی هر دو غشای سلولی را مختل می‌کنند و درنتیجه ذخیره ATP داخل سلول را کاهش داده و ذخیره ATP خارج سلول را در *E. coli* افزایش می‌دهند. اسانس‌های گیاهی به دلیل خاصیت آب‌گریز بودن میل زیادی به لیپیدهای غشای سلول باکتریایی دارند و مشخصاً خاصیت ضد باکتریایی آن‌ها باشخصیت لیپوفیلی آن‌ها ارتباط دارد (بنچار و همکاران،

۲۰۰۷).دورمن و دینز (۲۰۰۰) بیان کردند که این سازوکار تابعی از خصوصیات لیپوفیلیک جز سازنده اسانس گیاهی و قدرت جایگاه عمل آن‌ها است. بورت (۲۰۰٤) اظهار داشت که به نظر می‌رسد باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی در برابر خواص ضد باکتریایی ترکیبات اسانس گیاهی حساس هستند. چرا که باکتری‌های گرم منفی یک‌لایه خارجی در اطراف دیواره سلولی خوددارند که به‌عنوان یک مانع عمل می‌کند و دسترسی به ترکیبات آب‌گریز را محدود می‌کند. بااین‌حال، هلاندر و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که ترکیبات فنولی تیمول و کاراواکرول با بر هم زدن غشای سلول خارجی، رشد باکتری‌های گرم منفی را مهار می‌کنند. به نظر می‌رسد که وزن مولکولی کوچک اسانس گیاهی به آن‌ها اجازه می‌دهد تا به غشای داخلی باکتری‌های گرم منفی نیز نفوذ کنند (دورمن و دینز، ۲۰۰۰). ترومبتا و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که مونوترپن‌های لینالیل استات، منتول و تیمول در برابر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی *E. coli* فعال هستند و اظهار داشتند که اثر ضد میکروبی این مونوترپن‌ها به دلیل اختلال در غشای پلاسما باکتری‌ها است، درنتیجه با نفوذپذیری غشا تداخل کرده و باعث نشت به داخل سلول می‌شوند.

اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی مورد استفاده در این مطالعه ازجمله در برابر باکتری *E. coli* توسط محققین بسیاری مشخص‌شده است (فرنومیت و همکاران، ۲۰۱۵؛ عاشقیان امیری و همکاران، ۲۰۱۵؛ یاپ و همکاران، ۲۰۱٤). علاوه بر این، موقیمی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش داد که نانو امولسیون اسانس آویشن دارای فعالیت ضد باکتریایی بسیار خوبی در برابر باکتری *E. coli* است. آن‌ها پیشنهاد کردند که نحوه عملکرد اسانس‌های امولسیون شده ایجاد اختلال در دیواره سلولی باکتری‌ها یا احتمالاً تغییر در یکپارچگی دیواره سلولی باکتری‌ها و یا از طریق تداخل در پروتئین‌های انتقال‌دهنده فعال موجود در دیواره سلولی باکتری‌ها است. نتایج مشاهده‌شده در مطالعه حاضر با این نتایج محققین مذکور مطابقت دارد.

جدول ۳-۵- اثر استفاده از اسانس مخلوط گیاهان داروئی بر جمعیت باکتری‌های *E-coli* و *Lactobacillus* مدفوع

	CON	100 E	200E	300E	SEM	سطح معنی داری مقایسات		
						خطی	درجه دوم	درجه سوم
E. coli count	۵/۰۷	۵/۰۲	٤/٧٢	٤/٤٧	۰/۱۲٦	۰/۰۰۰۱	۰/٤۲۵۱	۰/۵۹۳۵
Lactobacillus count	٦/٦٣	٦/۵۵	٦/۳۷	٦/۱۳	۰/۱٦۹	۰/۰۳۵۷	۰/٦٤۵۷	۰/۹٤٤۲

گروه‌های آزمایشی: CON = گروه کنترل، 100E = گروه دریافت‌کننده ۱۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 200E = گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز، 300E= گروه دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز

SEM= میانگین خطای استاندارد

مطابق نتایج مرحله دوم پژوهش حاضر بیشترین عملکرد و افزایش وزن روزانه در گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس مخلوط گیاهان داروئی مشاهده شد، همچنین جمعیت باکتری *E-coli* و *Lactobacillus* در مدفوع گوساله‌های دریافت‌کننده ۳۰۰ میلی‌گرم مخلوط اسانس گیاهی در روز کمتر از سایر گروه‌ها بود. بر همین اساس طی بر آورد نهایی، دریافت سطح ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس مخلوط گیاهان داروئی به عنوان سطح مصرف مناسب برای بررسی در مرحله بعدی انتخاب شد.

۳-۲- نتایج مرحله دوم تحقیق

۳-۲-۱- اثر بر عملکرد

نتایج مربوط به اثر استفاده از ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر عملکرد گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-٦ نشان داده‌شده است. مطابق این نتایج هیچ‌کدام از صفات عملکردی گوساله‌ها تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفته و ازنظر عملکردی تفاوت معنی‌داری در بین گروه‌های دریافت‌کننده جیره شاهد، ویتامین E و C و مخلوط ویتامین‌ها و اسانس گیاهی وجود نداشت.

اسانس‌های دارنده اثرات آنتی‌اکسیدانی و ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان‌ها در شرایط استرس‌زا و تنش مانع از افت عملکرد می‌شوند، احتمالاً افزودن آن به جیره در شرایط بدون تنش اثری بر عملکرد نداشته است.

بیشتر پستانداران، به‌ویژه نشخوارکنندگان اسید اسکوربیک (ویتامین C) را در کبد سنتز می‌کنند و بنابراین اغلب به‌عنوان ماده مغذی ضروری در نظر گرفته نمی‌شود (کیم و همکاران، ۲۰۱۲). بنابراین عدم تأثیر اسانس گیاهی و مکمل‌های ویتامینه بر عملکرد در آزمایش حاضر ممکن است به دلیل عدم تأثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد در شرایط پرورش عادی باشد.

جدول ۳-٦- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس در عملکرد رشد

	تیمارها					SEM	P value
	CON	EO	VC	VE	EO-CE		
وزن بدن (کیلوگرم)							
اولیه	۳۹/۷۰	۳۹/۹۵	۳۹/٦٥	۳۹/٤۰	۳۹/٦۰	۱/۳۷۸	۰/۹۹۹۱
نهایی	٦۰/۰۸	٦۱/۲۷	٦۱/٥٤	٦۱/۹۱	٦۱/٥۱	۱/۸٦	۰/۹٦٥٥
افزایش وزن روزانه (گرم در روز)							
دو هفته اول	۳٥۰/٦۷	۳٤۰/۰۰	۳٥۲/۰۰	۳۳۹/٦٦	۳۹٤/۰۰	۳۳/۸۷	۰/۷۸۰۷
دو هفته دوم	٤۸۱/۲٥	٥۲۰/٦۳	٥۷۰/۰۰	٥۸۱/٥٦	٥۳٦/۸۷	۳۱/۹٦	۰/۱۹٦۸
دو هفته سوم	٦۱۸/۳۳	٦٥۷/٥۰	٦۲۳/۷٥	٦۷٥/٤۱	٦۱۹/٥۸	٥٤/۹۹	۰/۹۲۳۸
کل دوره	٤۷۳/۹٥	٤۹٥/۸۱	٥۰۸/۹٥	٥۲۳/۳۷	٥۱۰/۱۲	۲٤/۲٦	۰/٦۷۰۰
خوراک مصرفی (گرم در روز)							
دو هفته اول	۱۲۳/۷۱	۱۲۰/٥۱	۱۲۹/٤۰	۱۳۲/۱٥	۱۲۹/۰۰	۸/۱٥	۰/۸٥۲۳
دو هفته دوم	۳۰۰/۹۰	۳۱٤/۳۰	۲۸۱/۷۰	۳۱۰/۸۰	۳۲/٦٥	۱۸/٤۹	۰/٥۹۷۷
دو هفته سوم	٦۹۲/۸۳	۷۱۸/۲۰	٦۹٥/۷٤	۷۰٦/۰۷	۷۳٦/۰۹	۲۳/۱۰	۰/۷٦۱۰
کل دوره	۳۷۲/٤۸	۳۸٤/۳٤	۳٦۸/۹٤	۳۸۳/۰۰	۳۹٥/٥۸	۹/٥۳	۰/۳۱۳۱
ضریب تبدیل غذائی	۰/۷۹	۰/۷۸	۰/۷٥	۰/۷٥	۰/۸۱	۰/۰٤٥	۰/۸٦۰۱

CON= جیره شاهد بدون افزودنی ؛ EO= جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس به شکل امولسیون شده در شیر ، VC= جیره شاهد به همراه ٦۰۰ میلی‌گرم در روز ویتامین C به شکل امولسیون شده در شیر ؛ VE= جیره شاهد به همراه ٥۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین Eدر روز به شکل امولسیون شده در شیر ، EO-CE= جیره غذایی شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ٥۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده در شیر.

۳-۲-۲- اثر بر متابولیتهای خونی

نتایج مربوط به اثر استفاده از ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر برخی متابولیت¬های خونی گوساله¬های هلشتاین در جدول ۳-۷ نشان داده شده است. مطابق این نتایج غلظت گلوکز (P۰/۰۰۱=)، پروتئین کل (P۰/۰۰٦۳=)، نیتروژن اوره¬ای خون (P۰/۰۰۰۱=) و بتاهیدروکسی بوتیرات (P۰/۰۱۳۰=) در خون گوساله-های مورد آزمایش تحت تأثیرتیمارهای آزمایشی قرار گرفت. به‌طوری‌که در ۱۵ روز نخست دوره گلوکز خون گوساله¬های دریافت کننده جیره شاهد و جیره غذایی شاهد با ۳۰۰ میلی گرم در روز اسانس گیاهی به‌صورت امولسیون شده کمترین بود. بیشترین گلوکز خون نیز در گوساله¬های دریافت‌کننده جیره غذایی شاهد با ۵۰۰ واحد بین¬المللی ویتامین E در روز به فرم امولسیون شده مشاهده شد. غلظت نیتروژن اوره¬ای خون نیز در روز ۱۵ دوره آزمایش در گوساله¬های دریافت کننده جیره شاهد و همچنین جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین¬المللی ویتامین E در روز به طور معنی¬داری بیشترین بود. فاکتور مذکور در روز ۳۰ نیز در دام¬های دریافت کننده جیره شاهد بیشترین بود، هرچند تفاوت معنی¬داری با سایر تیمارها به‌جز تیمار دریافت‌کننده جیره غذایی شاهد به همراه ۳۰۰ میلی¬گرم در روز اسانس نداشت. غلظت بتاهیدروکسی بوتیرات نیز در روز ۱۵ در گوساله¬های دریافت‌کننده جیره غذایی شاهد همراه با ۳۰۰ میلی¬گرم اسانس، ٦۰۰ میلی¬گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین¬المللی ویتامین E به صورت امولسیون شده بیشترین بود.

امروزه نتایج تحقیقات مشخص کرده است که مهم‌ترین عامل در تولید رادیکال‌های آزاد در زمان افزایش قند خون، هیپرگلیسمی است که باعث افزایش تولید رادیکال سوپراکسید در میتوکندری می‌شود (برونلی، ۲۰۰۱). آلفا توکوفرول دارای اثرات مفیدی بر روی کنترل متابولیک به‌واسطه اثرات آنتی‌اکسیدان آن بر روی اکسیداسیون لیپید و گلیکوزیلاسیون پروتئین است (اُکونل، ۲۰۰۱). این در حالی است که نتایج مطالعه حاضر در تضاد با آنچه بیان شد، است. چرا که در تحقیق حاضر گلوکز خون هنگام استفاده از

ویتامین E که یک آنتی‌اکسیدان است افزایش‌یافته است. هرچند این تفاوت در غلظت گلوکز خون بین تیمارها در مرحله دوم آزمایش مشاهده نشد. غلظت نیتروژن اوره‌ای خون نیز در این تحقیق با استفاده از عصاره گیاهی کاهش یافت. این اثر در آزمایش ما مطابق با تحقیقات قبلی است که از دزهای مختلف مکمل سینامالدئید در گاو و بره پرواری استفاده‌شده بود (یانگ و همکاران، ۲۰۱۰؛ چاوز و همکاران، ۲۰۱۱). تفاوت در نتایج مطالعات مختلف می‌تواند ناشی از مقدار مصرف اسانس و ویتامین‌ها باشد. موافق با نتایج تحقیق حاضر، پژوهشی نشان می‌دهد که ویتامین C و اسانس گیاه سیاه‌دانه سبب کاهش سطح بالای کراتینین و نیتروژن اوره‌ای خون شده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سرم را افزایش می‌دهد (هاراپانهالی و همکاران، ۱۹۹۶). نتایج تحقیق وکیلی و همکاران (۲۰۱۳) نیز با نتایج تحقیق حاضر ازنظر تأثیر مصرف اسانس گیاهی بر میزان بتاهیدروکسی بوتیرات خون در یک راستا قرار دارد. مصرف هم‌زمان ویتامین‌ها و اسانس‌های گیاهی سبب افزایش میزان بتاهیدروکسی بوتیرات خون شد. که به نظر می‌رسد به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی هم‌زمان آن‌ها باشد.

جدول ۳-۷- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی روی متابولیت‌های خون

	تیمارها						
	CON	EO	VC	VE	EO-CE	SEM	P value
گلوکز(میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	^{b}۱۱٤/۲۰	^{b}۱۱۵/۳۰	^{ab}۱۳۸/٤۰	^{a}۱۵۳/۹۰	^{ab}۱۳۷/۸	۷/۱۸۹	۰/۰۰۱
۳۰ روز	۸٤/۵۰	۸۲/۳۰	۹٦/۹۰	۹۵/۸۰	۹۰/۲۰	٤/۵۰۳	۰/۰۹۵۷
پروتئین کل (گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	۷/۰٦	۷/٤۸	۷/۰۸	۷/۳۵	۷/٤۰	۰/۱٤۹	۰/۱۷٦۱
۳۰ روز	٦/۱۲^{c}	٦/٦۰^{ab}	٦/۱۸^{c}	٦/۲۷^{bc}	٦/۷۳^{a}	۰/۱۳۲	۰/۰۰٦۳
آلبومین(میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	٤/٤۸	٤/٤۲	٤/٦۷	٤/٦٦	٤/٦٤	۰/۱٤٦	۰/٦٤۸۳
۳۰ روز	٤/۲۷	٤/۵۵	٤/۳۷	٤/۳۰	٤/٦۱	۰/۱۰۵	۰/۱۰۲۵
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	۲۱/٦۰	۲۱/۲۰	۲۷/۷۰	۲۸/٦۰	۳۱/۸۰	۳/۰۹۷	۰/۰۸۰۹
۳۰ روز	۱۸/۵۰	۲۰/۷۰	۱۹/۷۰	۲۱/٦۰	۲٤/۸۰	۲/۰۰۱	۰/۲٤۱٦
کلسترول (میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	۱۱۸/۱۰	۱۲٤/۹۰	۱۲۸/۷۰	۱٤۰/۲۰	۱٤۰/۱۰	۹/٦٤۲	۰/٤۱۳۹
۳۰ روز	۹۳/۰۰	۱۰۳/۲۰	۱۱۰/۷۰	۱۱۲/٦۰	۱۰۵/٤۰	۵/۹۵۰	۰/۱۷۱۸
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	۲٤/۷۰^{a}	۱٦/۷۰^{b}	۱۹/٦۰^{b}	۲۵/۳۰^{a}	۱۸/۹۰^{b}	۰/۹۷۳	۰/۰۰۰۱
۳۰ روز	۳۰/٤۰^{a}	۲٤/۷۰^{b}	۲٦/۳۰^{ab}	۲۸/۳۰^{ab}	۲٦/۱۰^{ab}	۱/۲۰۲	۰/۰۰۷٦
بتاهیدروکسی بوتریک اسید (میلی‌گرم در دسی لیتر)							
۱۵ روز	۰/۱۵۵^{b}	۰/۱۵۲^{b}	۰/۱۹۷^{b}	۰/۱۸۵^{b}	۰/۲۲٦^{a}	۰/۰۱٦۲	۰/۰۱۳۰
۳۰ روز	۱/۵۷۵	۱/۳٦۵	۱/٦۸۸	۱/۵۸٤	۱/۸۸۹	۰/۱۹٤۰	۰/٤۳٦۱

CON= جیره شاهد بدون افزودنی ؛ EO= جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس به شکل امولسیون شده در شیر ، VC= جیره شاهد به همراه ٦۰۰ میلی‌گرم در روز ویتامین C به شکل امولسیون شده در شیر ؛ VE= جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین Eدر روز به شکل امولسیون شده در شیر ، EO-CE= جیره غذایی شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده در شیر.

۳-۲-۳- اثر بر آنزیم‌های خون و شاخص‌های اکسیداتیو

نتایج مربوط به اثر استفاده از ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر برخی آنزیم‌های خون و شاخص-های اکسیداتیو گوساله‌های هلشتاین در جدول ۳-۸ نشان داده‌شده است. مطابق این نتایج غلظت همه آنزیم‌های کبدی موردمطالعه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند. غلظت آسپارتات ترانس آمیناز در روز ۳۰ در خون گوساله‌های دریافت‌کننده جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس گیاهی کمترین میزان بود (P=۰/۰۰۰۳) . غلظت آلانین آمینوترانسفراز نیز در روز ۳۰ دوره آزمایش در گروه شاهد بیشترین بود(P=۰/۰۰۰۳). گاماگلوتامیل ترانسفراز در خون گوساله‌های دریافت‌کننده جیره شاهد و جیره شاهد به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم در روز ویتامین C به شکل امولسیون شده در شیر در روز ۱۵ (P=۰/۰۰۶۷) و ۳۰ (P=۰/۰۰۰۱) دوره آزمایش بیشترین بود. ازنظر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز غلظت گلوتاتیون پراکسیداز خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرارگرفته و در گوساله‌های دریافت‌کننده جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده بیشترین بود. غلظت مالون دی آلدئید نیز در روز ۱۵ (P=۰/۰۰۲۲) و ۳۰ (P=۰/۰۰۰۸) دوره آزمایشی در هر دو تیمار دریافت‌کننده جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز به شکل امولسیون شده در شیر و تیمار دریافت‌کننده جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده کمترین بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز در گوساله-های دریافت‌کننده جیره شاهد کمترین بود(P=۰/۰۰۰۱). در مطالعه حاضر، غلظت آنزیم‌های کبدی به‌طور قابل‌توجهی در گروه‌های تغذیه‌شده با اسانس گیاهی، ویتامین E و مصرف هم‌زمان ویتامین‌ها و اسانس گیاهی کاهش یافت. سطح پایین آنزیم کبد نشان‌دهنده سلامت بهتر گوساله‌ها است. تعیین آن نشانگر استرس اکسیداتیو در بافت کبد است، زیرا غلظت بالای آنزیم‌ها به بیماری کبد منجر می‌شود (پریک و همکاران، ۲۰۱۰). در این مطالعه کاهش غلظت آنزیم‌های کبدی نسبت به گروه شاهد ممکن است به دلیل

اثر آنتی‌اکسیدانی ویتامین E باشد. همان‌طور که پیشتر ذکر شد نشخوارکنندگان اسید اسکوربیک (ویتامین C) را در کبد سنتز می‌کنند و بنابراین اغلب به‌عنوان ماده مغذی ضروری در نظر گرفته نمی‌شود (کیم و همکاران، ۲۰۱۲). مکمل‌سازی جیره با ویتامین C اغلب نتیجه خود را در شرایط تنش‌زا آشکار می‌کند. بر همین اساس در پژوهش حاضر اثر ویتامین C بر آنزیم‌های کبدی چندان مشهود نبوده و اثر اسانس گیاهی و ویتامین E بهتر بروز یافته است. وکیلی و همکاران (۲۰۱۳) با مصرف اسانس گیاهی اثر معنی‌داری بر غلظت آسپارتات ترانس آمیناز و آلانین آمینو ترانسفراز مشاهده نکردند. آویشن (به‌عنوان یکی از گیاهان مورداستفاده در پژوهش حاضر) در کبد اثرات آنتی‌اکسیدانی خود را با جلوگیری از تولید کربن تتراکلرید ناشی از افزایش پراکسیداسیون چربی اعمال می‌کند. فعالیت‌های اکسیداتیو آنزیم‌های مربوط به استرس مانند کاتالاز، گزانتین اکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و گلوتاتیون پروکسیداز را به سمت مقادیر طبیعی در کبد می-رساند (راسکوویچ و همکاران، ۲۰۱۵). سمیت کبدی ناشی از کربن تتراکلرید به‌وسیله افزایش آنزیم‌های آسپارتات ترانس آمیناز و آلانین آمینو ترانسفراز شکل می‌گیرد. مشخص‌شده است که تیمول به‌عنوان ماده مؤثره آویشن در کاهش فعالیت آمینوترانسفرازها نقش دارد (پورمحمود و همکاران، ۲۰۱۳). اساوا و کاتو (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که منابع گیاهی می‌توانند بافت‌ها را از آسیب ناشی از وجود رادیکال‌های آزاد حفظ کنند. به‌طورکلی پذیرفته‌شده است که رادیکال‌های آزاد می‌توانند واکنش آسیب سلولی را از طریق مکانیسم‌های متفاوتی مانند کاهش گلوتاتیون و پروتئین‌های تیولی و همچنین پراکسیداسیون لیپیدی ایجاد کند. پراکسیداسیون لیپیدی منجر به مرگ سلول‌های کبدی در حضور پراکسیدان‌ها می‌شود (نووانا و اوبوه، ۲۰۰۷). ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان با پراکسیداسیون لیپیدها در داخل بدن رابطه معکوس دارند و در غیاب آن‌ها سلول‌ها آسیب می‌بینند. به‌خوبی اثبات‌شده است که ویتامین E یک ویتامین آنتی‌اکسیدان است و نقشی اساسی در دفاع در برابر پراکسیداسیون لیپیدها دارد (خان، ۲۰۱۱).

جدول ۳-۸- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر روی آنزیم‌های خون و شاخص-های اکسیداتیو

		تیمارها					
		CON	EO	VC	VE	EO-CE	SEM	P value
آسپارتات ترانس آمیناز U/mL								
۱۵	۴۳/۳۰	۳۸/۳۰	۴۴/۶۰	۴۹/۹۰	۴۲/۶۰	۳/۲۰۹	۰/۱۶۸۲
۳۰	۵۷/۶۰^{a}	۴۱/۳۰^{c}	۵۲/۶۰^{ab}	۴۴/۹۰^{b}	۴۵/۶۰^{b}	۲/۵۵۶	۰/۰۰۰۳
آلانین آمینو ترانسفراز U/mL							
۱۵	۹/۶۰	۷/۵۰	۸/۲۰	۷/۹۰	۷/۶۰	۰/۶۳۲	۰/۱۴۳۶
۳۰	۱۳/۶۰^{a}	۱۱/۷۰^{ab}	۱۰/۶۰^{bc}	۹/۸۵^{bc}	۹/۶۹^{bc}	۰/۶۳۰	۰/۰۰۰۳
گاماگلوتامیل ترانسفراز U/mL							
۱۵	۴۰/۵۰^{ab}	۲۷/۷۰^{c}	۴۱/۶۰^{ab}	۳۴/۰۰^{bc}	۳۳/۳۰^{bc}	۲/۸۲۵	۰/۰۰۶۷
۳۰	۴۸/۸۰^{a}	۲۹/۷۰^{c}	۴۹/۴۰^{a}	۳۷/۰۰^{abc}	۲۷/۳۰^{c}	۳/۱۳۹	۰/۰۰۰۱
گلوتاتیون پراکسیداز U/g Hb							
۱۵	۵۷/۸۵^{b}	۶۱/۸۴^{b}	۶۳/۵۳^{ab}	۶۲/۴۸^{b}	۷۷/۹۴^{a}	۳/۸۱۴	۰/۰۰۶۷
۳۰	۶۸/۱۶^{ab}	۶۶/۸۹^{b}	۷۰/۶۳^{ab}	۶۹/۴۷^{ab}	۸۱/۷۰^{a}	۳/۵۷۵	۰/۰۳۸۸
سوپراکسید دیسموتازU/g Hb							
۱۵	۱۶۴۲/۰۰	۱۷۶۰/۰۰	۱۶۲۳/۹۳	۱۶۱۱/۶۶	۱۸۴۰/۳۵	۷۸/۳۲	۰/۱۲۹۵
۳۰	۱۷۹۲/۰۰	۱۸۵۰/۰۰	۱۹۲۳/۹۲	۱۸۵۱/۶۵	۲۰۶۰/۳۶	۷۷/۸۷	۰/۱۵۳۷
مالون دی‌آلدئید mmol/L							
۱۵	۲/۰۳^{ab}	۱/۵۶^{bc}	۱/۹۹^{ab}	۱/۵۹^{bc}	۱/۴۴^{c}	۰/۱۲۰	۰/۰۰۲۲
۳۰	۲/۳۰^{a}	۱/۹۷^{bc}	۲/۳۸^{a}	۱/۹۹^{c}	۱/۷۷^{c}	۰/۱۳۲	۰/۰۰۰۸
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کلmmol/L							
۱۵	۰/۱۰۴^{c}	۰/۱۴۸^{bc}	۰/۲۱۴^{a}	۰/۱۸۳^{ab}	۰/۲۰۱^{a}	۰/۰۱۱۱	۰/۰۰۰۱
۳۰	۰/۱۹۶^{c}	۰/۲۹۳^{ab}	۰/۲۶۴^{ab}	۰/۲۰۵^{bc}	۰/۳۱۰^{a}	۰/۰۱۶	۰/۰۰۰۱

CON= جیره شاهد بدون افزودنی ؛ EO= جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس به شکل امولسیون شده در شیر ، VC= جیره شاهد به همراه ۶۰۰ میلی‌گرم در روز ویتامین C به شکل امولسیون شده در شیر ؛ VE= جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین Eدر روز به شکل امولسیون شده در شیر ، EO-CE= جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ۶۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده در شیر.

۳-۲-٤- اثر بر فراسنجه‌های هماتولوژی

نتایج مربوط به اثر استفاده از ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر فراسنجه‌های هماتولوژی گوساله-های هلشتاین در جدول ۳-۹ نشان داده‌شده است. مطابق این نتایج هیچ‌کدام از فراسنجه‌های هماتولوژی گوساله‌های موردمطالعه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت و فقط غلظت گلبول قرمز خون در تیمار دریافت‌کننده جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز بیشترین و در جیره شاهد نیز کمترین بود (P=۰/۰۱۲۹). استرس اکسیداتیو به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر در کاهش طول عمر گلبول-های قرمز شناخته شده است. این استرس در اثر عدم تعادل بین عوامل اکسیدکننده و آنتی‌اکسیدان در بدن به وجود می‌آید و ناشی از افزایش تولید رادیکال‌های آزاد و کمبود آنتی‌اکسیدان است (قانع شعرباف و همکاران، ۱۳۸۵). بر همین اساس مصرف مواد آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش امکان ایجاد این عدم تعادل و بنابراین افزایش طول عمر گلبول قرمز خون می‌شود. چنین اثری به‌طور واضح در تحقیق حاضر قابل‌مشاهده است.

جدول ۳-۹- اثرات فرم‌های امولسیون شده ویتامین E ، ویتامین C و اسانس گیاهی بر فراسنجه‌های هماتولوژی

	Treatments						
	CON	EO	VC	VE	EO-CE	SEM	P value
گلبول سفید خون(1000/µL)	۷/٤۳	۷/۳۸	۷/۰۲	۷/۵۲	۷/۲۱	۰/٤٦۱	۰/۹٤۳۷
نوتروفیل(1000/µL)	۳/۳۲	۳/۵٤	۲/۹۷	۳/٤۸	۲/۹٤	۰/۳۳۳	۰/۵۹۱۱
لنفوسیت(1000/µL)	۳/۰۱	۳/۵٦	۳/۵۳	۳/٤۹	۳/۵۵	۰/۲۸۰	۰/۵۸۲۵
مونوسیت(1000/µL)	۰/۷۱	۰/۷۵	۰/٦٤	۰/۷۰	۰/۸٦	۰/۰۷۰	۰/۲۵۲۹
ائزینوفیل(1000/µL)	۰/۰۲۵	۰/۰۳۸	۰/۰۲۱	۰/۰۲۲	۰/۰۳۸	۰/۰۱۱	۰/۷۱۷۳
بازوفیل(1000/µL)	۰/۰۲۳	۰/۰۳۳	۰/۰۱۸	۰/۰۳٤	۰/۰۳۲	۰/۰۰۵	۰/۲۳٦٤
گلبول قرمز خون(10^{12}/L)	۸/۲۱^{b}	۸/۷۵^{ab}	۹/۵٤^{ab}	۹/۹۵^{a}	۸/۷۵^{ab}	۰/۳٦٦	۰/۰۱۲۹
هموگلوبین(g/dL)	۸/۳٦	۸/۸۵	۹/۱۱	۹/۰٦	۸/٦۳	۰/٤۰٦	۰/٦۷۳۳

CON= جیره شاهد بدون افزودنی ؛ EO= جیره شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم در روز اسانس به شکل امولسیون شده در شیر ، VC = جیره شاهد به همراه ٦۰۰ میلی‌گرم در روز ویتامین C به شکل امولسیون شده در شیر ؛VE = جیره شاهد به همراه ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E در روز به شکل امولسیون شده در شیر ، EO-CE = جیره غذایی شاهد به همراه ۳۰۰ میلی‌گرم اسانس، ٦۰۰ میلی‌گرم ویتامین C و ۵۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به شکل امولسیون شده در شیر.

فصل چهارم: نتیجه‌گیری

٤-١- نتیجه‌گیری

تغذیه مخلوط اسانس گیاهی در سطح ؟ به شکل میسل شده موجب بهبود افزایش وزن ١٤-٢٨ روزگی و ٢٨-٤٣ روزگی شد.

غلظت‌های خونی تری گلیسیرید و نیتروژن اوره‌ای خون گلوکز تحت اثر تغذیه مخلوط اسانس‌های گیاهی به ترتیب به‌طور خطی افزایش و کاهش یافت.

تغذیه مخلوط اسانس گیاهی به شکل امولسیفیه شده موجب کاهش معنی‌دار غلظت‌های خونی آنزیم‌های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در ٣٠ روزگی و گاماگلوتامیل ترانسفراز در ١٥ و ٣٠ روزگی به‌طور خطی شد.

غلظت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

غلظت خونی مالون دی آلدهید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل خون با افزایش سطح اسانس گیاهی میسل شده به‌طور خطی به ترتیب کاهش و افزایش یافت.

تغذیه مخلوط میسل شده اسانس گیاهی به‌طور خطی موجب کاهش دفع لاکتوباسیل‌ها و باکتری *E.Coli* در مدفوع شد.

اثرات مثبت اسانس میسل شده بر بهبود رشد و سلامت گوساله‌های شیرخوار مشاهده شد و سطح ٣٠٠ میلی‌گرم در روز بهترین نتیجه را موجب شد.

استفاده از شکل میسل شده اسانس گیاهی، ویتامین C و ویتامین E در بهبود فراسنجه‌های خونی مرتبط با سلامت و وضعیت اکسیداسیونی مؤثر بودند.

پیشنهاد

۱. پیشنهاد می شود آزمایشی برای تغذیه مواد معدنی مانند سلنیوم و سایر مواد مغذی مثل ویتامین های گروه B به صورت امولسیون استفاده شود.

۲. همچنین برای تهیه امولسیون از مواد امولسیفایرهای مختلفی مثل صمغ زانتان و گوار و ... استفاده شود و به جای روغن زیتون از دیگر روغن ها مثل روغن کتان و آفتابگردان استفاده کرده و با این آزمایش مقایسه شود.

۳. پیشنهاد می شود از گیاهان دارویی مختلف دیگر که در این پژوهش استفاده نشده است مثل گیاه دارویی پونه و ... آزمایش تکرار شود.

٤. پیشنهاد می شود این پژوهش با دوزهای بالاتر از اسانس ها مورد مطالعه، به صورت امولسیون شده روی گوساله های شیری انجام گیرد.

۵. پیشنهاد می شود این آزمایش روی دامهای دیگر از جمله بره های و بزغاله های شیرخوار انجام گیرد.

٦. پیشنهاد می شود در آزمایش دیگری اثرات سینرژیسمی یا آنتاگونیسمی گیاهان دارویی با هم دیگر مورد مطالعه قرار گیرد.

منابع و مأخذ:

الف: منابع فارسی

امیدی کیا س. ۱۳۹۳. تأثیر برگ گیاه مریم‌گلی بر عملکرد و برخی فراسنجه های ایمنی جوجه‌های گوشتی. پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته تغذیه دام. دانشگاه زابل. ایران.

آزاد ع. ۱۳٦۹. بررسی تنوع اکوتیپی و شیمیوتیپی آویشن دنایی (*Thymus daenensis Celak*) در استان‌های اصفهان و چهارمحال و بختیاری. مجله داروهای گیاهی، دوره سوم، شماره ۱، ص ۱۰- ۱.

آیینه‌چی ی. ۱۳٦۵. مفردات پزشکی و گیاهان داروئی ایران، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

تاکی ا، سالاری س، بوجارپور م، ساری م، تقی زاده م. ۱۳۹٤. اثر تغذیه سطوح مختلف اسانس گیاه اسطوخودوس بر ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ، برخی فراسنجه‌های خونی و تغییرات ریخت‌شناسی تخمدان در مرغان تخم‌گذار. مجله دامپزشکی ایران، دوره اول، ۱۱: ص ۵۵- ٤۳.

جایمند ک، رضایی م ب. ۱۳۸۰. اسانس و دستگاه‌های اسانس‌گیری. موسسه تحقیقات جنگلی و مراتع.

جم زاده ز. ۱۳۷۳. آویشن. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

زهرایی صالحی م ت، وجگانی م، بیات م، ترشیزی ح، آخوندزاده ا. ۱۳۸٤. تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده اسانس گیاهی آویشن روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتسه و اشریشیاکلی. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. دوره دوم، ٦۰: ص ۱۱۰- ۱۰۷.

صادق زاده ل، سفید کن ف، اولیا پ. ۱۳۸۵. بررسی ترکیب و خواص ضدمیکروبی اسانس آویشن شیرازی. مجله پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی، ۷۱: ص ٥٦- ۵۲.

قانع شعرباف ف، مدرسی ع، اسماعیلی م، خواجه دلویی م. ۱۳۸۵. اثر ویتامین E خوراکی بر روی کم‌خونی کلیوی در کودکان تحت همودیالیز مزمن. دوره چهل و نهم، ۹۱ : ص ۳٤- ۲۷.

قوسیان مقدم م، روغنی م، گرجی زاده ز و صدرائی س. ۱۳۹٤، اثر تجویز خوراکی گیاه مریم‌گلی بر سطح گلوکز، لیپیدهای سرم و استرس اکسیداتیو بافت کبدی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان، دوره هفدهم، شماره ۲: ص ٤٤- ۳۸.

قهرمان ا. ۱۳۷۳. کروموفیت‌های ایران (سیستماتیک گیاهی). دانشگاه تهران.

قهرمان ا. ۱۳۵۱. فلور رنگی ایران. تهران،موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ، بخش گیاه‌شناسی.

مصدق ر، سالاری س، ساری م، محمدآبادی ط، تقی زاده م .۱۳۹۲ . مقایسه اثر افزودن اسانس گیاه دارویی بومی مرو تلخ با آنتی‌بیوتیک ویرجینیامایسین بر عملکرد، متابولیت‌های خون و برخی از فراسنجه‌های ایمنی جوجه‌های گوشتی .نشریه پژوهش‌های علوم دامی ایران، دوره اول، ۵: ص ۲۸- ۲۰.

ملافیلابی ع. ۱۳۷۹. تکنولوژی تولید بذر و تکثیر انبوه گیاهان دارویی. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران. مرکز خراسان.

میرزا م، سفیدکن ف، احمدی ل. ۱۳۷۵. اسانس‌های طبیعی (استخراج، شناسایی کمی و کیفی، کاربرد). چاپ اول، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهران. ۱۶۱: ص ۱۳- ۱۱.

ب: منابع انگلیسی

Abbasi N R, Aboei F, Sonnwaldt U, Voll L M. 2013. Reduced Tocopherol Content in Arabidopsis thaliana by HPT: RNAi. Biotech C, 4: 43-52.

Abdallah I A, Khattab H H, Sawiress F A R, EL-Banna R A S. 2010. Effect of Salvia Officinalis L. (Sage) Herbs on osteoporotic changes in aged non-cycling female rats. Medical Journal of Cairo University, 78 (1): 1-9.

Abd-Almageed M A, Hussein B A. 2008. Cytotoxicity and antimicrobial activity of Salvia officinalis L. flowers. Sudan JMS. 3(2): 127-132.

Acamovic T, Brooker J D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. Proceedings of the Nutrition Society, 64: 403–412.

Adam K, Sivropoulou A, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M .1998. Antifungal activities of Origanum vulgare ssp. hirtum, Mentha spicata, Lavandula angustifolia, and Salvia fruticosa essential oils against human pathogenic fungi. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 1739-1745.

Adaszyńska-Skwirzyńska M, Szczerbińska D. 2018. The antimicrobial activity of lavender essential oil (Lavandula angustifolia) and its influence on the production performance of broiler chickens. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2018: 1–6.

Afsharypuor S, Jeiran K, Jazy AA. 1998. First investigation of the flavor profiles of leaf, ripe fruit and root of Capparis spinosa var. mocronifolia from Iran. Pharmaceutica Acta Helvetiae, 72: 307-309

Ahmadi Hamedani M, Naserian A A, Tahmasbi AM. 2016. Evaluation of vitamin Eon microscopic parameters of child and frozen stored ram semen. Der Pharma Chemica, 8(6): 16-22

Ahsan-Ul-Haq, Mera KA, Rasool S. 1999. Effect of supplementing Allium sativum (garlic) and Azidirachta indica (Neem) leaves in broiler feeds on their blood cholesterol, triglycerides and antibody titre. International Journal of Agriculture, 1: 125-127.

Alekish MO, Ismail ZB, Awawdeh MS, Shatnawi S. 2017. Effects of intramammary infusion of sage (Salvia officinalis) essential oil on milk somatic cell count, milk composition parameters and selected hematology and serum biochemical parameters in Awassi sheep with subclinical mastitis, Veterinary World, 10(8): 895-900.

Alkan F, Gursel F, Ates A. 2012. Protective effect of Salvia officinalis extract against cyclophosphamide induced genotoxicity and oxidative stress in rats. Turkish Journal of Veterinary And Animal Sciences, 36 (6): 646-654.

Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. 2013. Antioxidant activity of essential oils. Agricultural and Food Chemistry, 61: 10835-10847.

Anghel A H, Coprean D, Zamfirescu S. 2011. Influence of vitamin E on microscopic and oxidative parameters of frozen-thawed ram semen. 54: 261-265

Asadi S, Khodagholi F, Esmaeili M A, Khoramian Tusi S, Asari N, Shaerzadeh F, Sonboli A, Ghahremanzamaneh M. 2011. Chemical Composition Analysis, Antioxidant, Antiglycating Activities and Neuroprotective Effects of S. choloroleuca, S. mirzayanii and S. santolinifolia from Iran. The American Journal of Chinese Medicine, 39(3): 615-638.

Asheghian Amiri I, Moslemi H, Tehrani-Sharif M, Kafshdouzan K. 2015. Wound healing potential of Capparisspinosa against cutaneous wounds infected by Escherichia coli in a rat model. Herba Polonica. 61: 63-72.

Athanasiadou S, Kyriazakis I. 2004. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. Proceedings of the Nutrition Society, 63: 631-639.

Balandrin M F, Klocke J. A. 1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials Science, 228: 1154-1160

Bampidis V A, Christodoulou V, Florou-Paneri P, Christaki E. 2006. Effect of dried oregano leaves versus neomycin in treating newborn calves with colibacillosis. Journal of Veterinary Medicine, 53: 154–156.

Barbera G, Lorenzo R I. 1984. The caperculture inItaly. Acta Horticulturae, 144: 167-171.

Basmacıoğlu MH, Baysal Ş, Mısırlıoğlu Z, Polat M, Yilmaz H, Turan N, 2010. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on a wheat-soybean meal diets. British Poultry Science, 51: 67-80.

Bouyahya b, Et-Touys A, Abrini J, Talbaoui A, Fellah H, Bakri Y, Dakka N, 2017. Lavandula stoechas essential oil from Morocco as novel source of antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities, Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 12: 179-184,

Beltrame P, Beltrame PL, Carniti P, Guardione D, Lanzetta C .1988. Inhibiting action of chlorophenols on biodegradation of phenol and its correlation with structural properties of inhibitors. Biotechnol Bioeng, 31: 821-828.

Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, Fraser GR, Colombatto D, et al. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology, 145: 209-228.

Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, Fraser GR, Colombatto D, McAllister TA, Beauchemin KA. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. Animal Feed Science and Technology, 145: 209-228.

Benchaar C, Hristov AN, Greathead H .2009. Essential oils as feed additives in ruminant nutrition. In: Steiner T (Ed.), Phytogenics in animal nutrition. Nuttingham University Press, Nottingham, UK 111-146.

Benchaar C, Petit H, Berthaiume R, Whyte T, Chouinard Y. 2006. Effects of Addition of Essential Oils and Monensin Premix on Digestion, Ruminal Fermentation, Milk Production, and Milk Composition in Dairy Cows. Journal of dairy science, 89: 4352-64.

Benchaar C, Duynisveld J, Charmley E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. Canadian Journal of Animal Science, 86: 91-96.

Bendich A, 1986. the antioxidant role of vitamin C, adv.in free Radicals Biology and Medicine, 2: 419-444.

Borchers R. 1965. Proteolytic activity of rumen fluid in vitro. Journal of Animal Sciences, 24: 1033-1038.

Botsoglou NA, Grigoropoulou SH, Botsoglou E, Govaris A, Papageorgiou G. 2003. The effects of dietary oregano essential oil and a-tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked Turkey during refrigerated storage. Meat Science, 65: 1193-1200.

Bouyahya A, Abrini J, Et-Touys A, Bakri Y, Dakka N. 2017. Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. European Journal of Integrative Medicine, 13: 9–25.

Brenes A, Roura E .2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology, 158: 1-14.

Brownlee M. 2001. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. Nature, 414: 813-820.

Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-A review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, 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, 123/124: 597-613.

Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo P W, Castillejos L, Ferret A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science, 90: 2580-2595.

Canillac N, Mourey A. 2001. Antibacterial activity of the essential oil of Picea excelsa on Listeria, Staphlococcus aureus and coliform bacteria. Food Microbiol, 18: 261-268.

Cao Y L, Zheng M. 2010. Effect of Capparis spinosa on fibroblast proliferation and type II collagen production in progressive systematicsclerosis. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 33: 560–563.

Cardozo P W, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. 2006. Effects of alfalfa extract, anise, capsicum, and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high-concentrate diet. Journal of Animal Science, 84: 2801-2808.

Cardozo P W, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high concentrate diet for beef cattle. Journal of Animal Science, 83: 2572–2579.

Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R. 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Animal Feed Science and Technology, 132: 186–201

Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A. 2006. Effect of essential oils active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. Journal of Dairy Science, 89: 2649-2658.

Castillejos L, Calsamiglia S, Martın-Tereso J, Ter Wijlen H. 2008. In vitro evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. Animal Feed Science and Technology, 14: 259- 270.

Cavar S, Maksimovic M, Solic M E. 2013. Chemical composition and antioxidant activity of two Satureja species from Mt. Biokovo. Food Chemistry, 37(2): 159-165.

Chao SC, Young DG, Oberg CJ. 2000. Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. Journal of Essential Oil Research, 12: 639-649.

Chaves A V, Stanford K, Gibson L L, McAllister T A, Benchaar C. 2008. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Animal Feed Science and Technology, 145: 396-408.

Chester-Jones H, Steiner T, Watkins M, Taylor D, Ziegler D, Raeth-Knight M, Golombeski G. 2010. Pre- and post-weaning performance and health of calves fed milk replacers and calf starters with or without essential oils. Journal of Animal Science, 88: 421.

Craig WJ. 2001. Herbal remedies that promote health and prevent disease. In: Watson RR (Ed.), Vegetables, fruits, and herbs in health promotion. CRC Press, Boca Raton, Florina, USA, 179-204.

Cristovao F L, Andrade P B, Seabra R M, Fernandes-Ferreira M, Pereira Wilson C. 2005. The drinking of a Salvia officinalis infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. Journal of Ethnopharmacology, 97: 383-389.

Davey MW, Stals E, Panis B, Keulemans J, Swennen RL. 2005. High-throughput determination of malondialdehyde in plant tissues. Analytical Biochemistry, 347: 201-207.

Deans SG, Ritchie G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. International Journal of Food Microbiology, l 5: 165-180.

Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88: 308–316.

Duke JA .1986. CRC handbook of medicinal herbs. CRC press, Florida, USA.

Durmic Z, Blache D. 2012. Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. Animal Feed Science and Technology, 176: 150–162.

Gull e, Anwar F, Sultana B, Cervantes Alcayde M A, Nouman W. 2015. Capparis species: A potential source of bioactives and high-value components: A review, Industrial Crops and Products, 67: 81-96,

El-Nekeety A A, Mohamed S R, Hathout AS, Hassan N S, Aly S E, Abdel-Wahhab M A. 2011. Antioxidant properties of Thymus vulgaris oil against aflatoxin-induce oxidative stress in male rats. Toxicon, 57 (8): 984-991.

Fallah Huseini H, Hasani Sh, Nayebi N, Heshmat R, Khaligi Sigaroodi F, Ahvazi M, Abassi Alaci B, Kianbakht S. 2013. Capparis spinosa L. (caper) fruit extract in treatment of type 2 diabetic: A randomized-controlled cilical trial. Complentary Therapies in Medicine, 21: 447-452.

Fandino I, Calsamiglia S, Ferret A, Blanch M. 2008. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. Animal Feed Science and Technology, 145: 409-417.

Ferrándiz ML, Alcaraz MJ. 1991. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. Agents Actions, 32: 283-288.

Figueiredo A C, Pedro H G, Schiffer J C. 1997. Physiological aspects of essential oil production. In: Fran, Z.k., Mathe, A. and Buchbaure, G. (Ed) Essential oils: basic and applied research. Allured publishing corporation carol stream, 95-107.

Formica JV, Regelson W. 1995. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. Food Chem Toxicol, 33: 1061-1080.

Fournomiti M, Kimbaris A, Mantzourani I, Plessas S, Theodoridou I, Papaemmanouil V, Kapsiotis I, Panopoulou M, Stavropoulou E, Bezirtzoglou E, Alexopoulos A. 2015. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (Origanumvulgare), sage (Salvia officinalis), and thyme (Thymus vulgaris) against clinical isolates of Escherichia coli, Klebsiellaoxytoca, and Klebsiella pneumonia. Microbial Ecology in Health and Disease, 26: 1-7.

Franz C, Baser KHC, Windisch W. 2010. Essential oils and aromatic plants in animal feeding a European perspective. A review. Flavour and Fragrance Journal, 25: 327–340.

Friedman M, Henika PR, Levin CE, Mandrell RE. 2004. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica in apple juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52: 6042-6048.

Froehlich KA, Abdelsalam KW, Chase C, Koppien-Fox J, Casper DP. 2017. Evaluation of essential oils and prebiotics for newborn dairy calves. Journal of Animal Science, 95: 3772-3782.

Gantner M, Brodowska M, Górska-Horczyczak E, Wojtasik-Kalinowska I. Najda A, Pogorzelska E, Godziszewska J. 2018. Antioxidant effect of sage (Salvia officinalis L.)

extract on turkey meatballs packed in cold modified atmosphere. CYTA – Journal of Food, 16(1): 628-636.

Gautheir R. 2002. Intestinal health, the key to productivity (the case of organic acids). precongreso Cientifico Avicola IASA. puerto Vallarta, Mexico.

Gershenzon J, Croteau R. 1991. Terpenoids in herbivores: Their Interactions with secondary plant metabolites. In: G. A. Rosenthal and M. R. Berenbaum (eds), Academic press, Sandiego , CA. 165-219.

Gershenzon J, Conkey MC, Croteau ME. 2000. Regulation of Monoterpene Accumulation in Leaves of Peppermint. Biochemistry And Macromolecular Structure, 122: 205-213.

Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA. 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with Eimeria tenella. Arch Tierernahr, 57: 99-106.

Giannenas I, Skoufos J, Giannakopoulos C, Wiemann M, Gortzi O, Lalas S and Kyriazakis I 2011. Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. Journal of Dairy Science, 94: 5569-5577.

Giannenas I, Bonos E, Christaki E, Florou-Paneri P. 2013. Essential Oils and their Applications in Animal Nutrition. Medicinal & Aromatic Plants. 2(6): 1-12.

Gill AO, Holley RA. 2004. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against Listeria monocytogenes and of eugenol against L. monocytogenes and Lactobacillus sakei. Applied and Environmental Microbiology, 70: 5750-5755.

Gill AO, Holley RA. 2006. Disruption of Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Lactobacillus sakei cellular membranes by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbiology, 108: 1-9.

Guarrera PM. 1999. Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy. Journal of Ethnopharmacology, 68: 183-192.

Gülçin İ, Şat İ G, Beydemir Ş, Elmestaş M, Küfrevioğlu Ö İ. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (Eugenia caryophylata Thunb) buds and lavender (Lavandula stoechas L.). Food Chemistry, 87: 393-400.

Gutierrez M E, Garcia A F, De Madariaga M A, Sagrista M L, Casado F J, Mora M. 2003. Interactoin of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components:Evaluation of their antioxidant activity in the liposomal modle system. Life Science, 72: 2337-2360.

Hamdy Roby M H, Sarhan M A, Selim K A H, Ibrahim Khalel K. 2013. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (Thymus vulgaris

L.), sage (Salvia officinalis L.), and marjoram (Origanum majorana L.) extracts. Ind. Crop. Prod. 43: 827-831.

Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M. 2013. Chemistry, pharmacology and medicinal property of Sage (Salvia) to prevent and cure illnesses such as obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease and Cancer. Global Journal of Medical Research, 13 (7): 1-9.

Hanieh H, Narabara K, Piao M, Gerile C, Abe A. 2010. Modulatory effects of two levels of dietary Alliums on immune response and certain immunological variables, following immunization, in White Leghorn chickens. Animal Science Journal, 81: 673-680.

Harapanhalli R, Yaghmai V, Giuliani D, Howell R and Rao D. 1996. Antioxidant effects of vitamin C in mice following X-irradiation. Research communications in molecular pathology and pharmacology, 94: 271-287.

Hashimoto T, Kumazawa S, Nanjo F, Hara Y, Nakayama T. 1999. Interaction of tea catechins with lipid bilayers investigated with liposome systems. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 63: 2252-2255.

Hassan A, Abu Hafsa SH, Elghandour MMY, Kanth Reddy PR, Salem MZM, Anele UY, Ranga Reddy PP, Salem AZM. 2020. Influence of Corymbia citriodora leaf extract on growth performance, ruminal fermentation, nutrient digestibility, plasma antioxidant activity and faecal bacteria in young calves, Animal Feed Science and Technology, 261: 114394.

Heipieper HJ, Keweloh H, Rehm HJ.1991. Influence of phenols on growth and membrane permeability of free and immobilized Escherichia coli. Appl Environ Microbiol, 57: 1213-1217.

Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol L, Smid EJ, Gorris LGM, von Wright A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistr, 46: 3590-3595.

Hill TM, Aldrich JM, Schlotterbeck RL, Bateman HG. 2007. Apex plant botanicals for neonatal calf milk replacers and starters. The Professional Animal Scientist, 23: 521-526.

Ikigai H, Nakae T, Hara Y, Shimamura T. 1993. Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochim Biophys Acta, 1147: 132-136.

Imanshahidi M. Hosseinzadeh H. 2006. The pharmacological effects of Salvia species on the central nervous system. Phytotherapy Research, 20 (6): 427-437.

Jafari RA, Jalali MR, Ghorbanpoor M, Saraei SM. 2008. Effect of dietary garlic on immune response of broiler chicks to live Newcastle Disease vaccine. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11: 1848-1851.

Jiang HE, Li X, Ferguson DK, Wang YF, Liu CJ, Li CS. 2007. The discovery of Capparis spinosa L.(Capparidaceae) in the Yanghai Tombs (2800 years bp), NW China, and its medicinal implications. Journal of Ethnopharmacology, 113: 409-420.

Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Stoyanova A, Krastanov A. 2006. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54: 6303-6307.

Juven BJ, Kanner J, Schved F, 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.

Küçükyilmaz K, Kiyma Z, Akdağ A, Çetinkaya M, Atalay H, Ateş A, Gürsel F E, Bozkurt M. 2017. Effect of lavender (Lavandula Stoechas) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. South African Journal of Animal Science, 47 (2): 178-186.

Ketzis JK, Tayler A, Brown DD, Brwon DA, Warnick LD. 2002. Chenopodium ambrosioides and its essential oil as treatments for Haemonchus contortus and mixed adult-nematode infections in goats. Small Ruminant Research, 44: 193-200.

Keweloh H, Weyrauch G, Rehm HJ.1990. Phenol-induced membrane changes in free and immobilized Escherichia coli. Applied Microbiology and Biotechnology, 33: pp 66-71.

Khan R, Naz S, Nikousefat Z, Tufarelli V, Javdani M, Rana N, Laudadio V. 2011. Effect of vitamin E in heat-stressed poultry. World's Poultry Science Journal, 67: 469-478.

Kim J H, Mauad L L, Yang C J, Kim S H, Ha, J K, Lee W S, Cho K K, Lee SS. 2012. Hemato biochemical and cortisol profile of Holistien growing-calves supplemented withvitamin C during summer season. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 25 (3): 361-368.

Kirkpinar F, Ünlü H B, Serdaroğlu M, Turp G Y. 2014. Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, color, pH and sensory quality of broiler meat. British Poultry Science, 55(2): 157-166.

Klinkon M, Ježek J. 2012. Values of blood variables in calves. A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine. Intech, Slovenia, 301–320.

Küçükyilmaz K, Kiyma Z, Akdağ A, Çetinkaya M, Atalay H, Ateş A, Gürsel F E, Bozkurt M. 2017. Effect of lavender (Lavandula Stoechas) essential oil on growth performance,

carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers.South African Journal of Animal Science, 47 (2): 178-182.

Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ .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.

Lata H, Ahuja GK, Narang APS, Walia L. 2004. Effect of immobilization stress on lipid peroxidation and lipid profile in rabbits. Clinical Biochemistry, 19: 1–4.

Lee KG, Shibamoto T. 2001. Inhibition of malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma extracts and aroma components isolated from clove and eucalyptus. Food Chem Toxicol, 39: 1199-1204.

Lee KG, Shibamoto T. 2002. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. J Agric Food Chem 50: 4947- 4952.

Lee KW. 2002. Essential oils in broiler nutrition. thesis, Utrecht University Repository. 143

Lee K W, Everts H, Beynen A C. 2004. Essential oils in broiler nutrition. International Journal of Poultry Science, 3 (12): 738-752.

Lu Y, Foo L Y. 2001. Antioxidant activities of polyphenols from sage (Salvia officinalis). Food Chem. 75 (2): 197-202.

Maher A, Al-Maqtari A, Alghalibi S, Alhamzy E H. 2012. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of Thymus Vulgaris from Yemen. Turkish Journal of Biochemistry, 36: 342-349 .

Manjunatha H, Srinivasan K. 2006. Protective effect of dietary curcumin and capsaicin on induced oxidation of low-density lipoprotein, iron-induced hepatotoxicity and carrageenan-induced inflammation in experimental rats. FEBS Journal, 273: 4528-537.

Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F. 2004. Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. Journal of Animal Science, 82: 3210-3218.

Jeshari M, Riasi A, Mahdavi A H, Khorvash M, Ahmadi F. 2016. Effect of essential oils and distillation residues blends on growth performance and blood metabolites of Holstein calves weaned gradually or abruptly. Livestock Science, 185: 117-122.

McClements D J, Decker E A, Weiss J. 2007. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. Journal of Food Science, 72: 109- 123.

Mellor S. 2000. Antibiotics are not the only growth promoters. World's Poultry Science Journal, 16 (1): 14-15.

Miguel MG. 2010. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. Flavour and Fragrance Journal, 25: 291-312.

Mittal P K, Anand M, Madan A K, Kumar J, Yadav S. 2014. Antioxidative capacity of vitamin E, vitamin C and their combination in cryopreserved Bhadarvari bull semen. Veterinary world, 7(12): 1127-1131

Moghimi R, Ghaderi L, Rafati H, Aliahmadi A, McClements DJ. 2015. Superior antibacterial activity of nanoemulsion of Thymus daenensis essential oil against E. coli. Food Chemistry, 194: 410-415.

Mohammed N, Ajisaka N, Lila ZA, Hara K, Mikuni K. 2004. Effect of Japanese horseradish oil on methane production and ruminal fermentation in vitro and in steers. Journal of Animal Science, 82: 1839-1846.

Morrill J L, Dayton A D, Mickelsen R. 1977. Cultured milk and antibiotics for young calves. Journal of Dairy Science, 60 (7): 1105-1109.

Naghdi Badi H, Yazdani D, Mohammad A, Nazari F. 2004. Effect of spacing and harvesting time on herbage yield and quality quantity of oil in thyme, Thymus vulgaris L. Industrial Crops and Products, 19: 231-236.

Nan L, Hyun–Jin P. 2010. Factors effect on the loading efficiency of Vitamin C loaded chitosan- coated nanoliposomes . Colloids Surf B Biointerfaces, 76: 16-19.

Negi PS .2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. International Journal of Food Microbiology, 156: 7-17.

Ninomiya K, Matsuda H, Shimoda H, Nishida N, Kasajima N, Yoshino T, Morikawa T, Yoshikawa M. 2004. Carnosic acid, a new class of lipid absorption inhibitor from sage. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 14 (8): 1943-1946.

Nobakht A, Nobakht M, Safamehr A R. 2012. The effect of different levels of savory medicinal plant (Satureja hortensis L.) on growth performance, carcass traits, immune cells and blood biochemical parameters of broilers. African Journal of Agricultural Research, 7(10): 1456-1461.

Nwanna E E, Oboh G. 2007. Antioxidant and hepatoprotective properties of polyphenol extracts from Telfairia occidentalis (fluted pumpkin) leaves on acetaminophen induced liver damage. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 2682-2687.

OConnel B. 2001. Select vitamins and minerals in the management of diabetes. Diabetes Spectrum, 14: 133-148.

Oboh G, Puntel R L, Rocha J B T. 2007. Hot pepper (capsicum annuum, tepin and capsicum chinese, habanero) prevents Fe2-induced lipid peroxidation in brain-in vitro. Food Chemistry, 102: 178-185

Oh J, Wall EH, Bravo DM, Hristov AN. 2017. Host-mediated effects of phytonutrients in ruminants: A review. Journal of Dairy Science, 100: 5974-5983.

Ollanketo M, Peltoketo A, Hartonen K, Hiltunen R, Riekkola M L. 2002. Extraction of sage (Salvia officinalis L.) by pressurized hot water and conventional methods: antioxidant activity of the extracts. European Food Research and Technology, 215 (2): 158-163.

Orzechowski A, Ostaszewski P, Jank M, Berwid SJ. 2002. Bioactive substances of plant origin in food-impact on genomics. Reproduction Nutrition Development, 42: 461-477.

Osawa T. Kato Y. 2005. Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. Annals of the New York Academy of Sciences, 1043: 440-451.

Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette GJ, Bégin A. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. International Journal of Food Microbiology, 37: 155-162.

Oussalah M, Caillet S, Lacroix M .2006. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes. Journal of Food Protection, 69: 1046-1055.

Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. 2007. Inhibitory effects of selected essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: E. coli O157:H7, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control, 18: 414-420.

Oyen LPA, Dung NX. 1999. Essential-oil plants. In: Oyen LPA, Dung NX (Eds.), esources of South-East Asia, Backhuys Publishers, Kerkwerve, The Netherlands 131-135.Stahl-Biskup, E. and Saez, F. 2002. Thyme The Genus Thymus. Taylor and Francis. New York.

Ozcan M, Akgul A. 1998. Influence of species harvest date and size on composition of caper (Capparis spp.) flower buds. Nahrung, 42: 102-105.

Penna C, Marino S, Vivot E, Cruañes MC, de D Muñoz J. 2001. Antimicrobial activity of Argentine plants used in the treatment of infectious diseases. Isolation of active compounds from Sebastiania brasiliensis. Journal of Ethnopharmacology, 77: 37-40.

Perić L, Milošević N, Žikić D, Bjedov S, Cvetković D, Markov S, Mohnl M, Steiner T. 2010. Effects of probiotic and phytogenic products on performance, gut morphology and cecal microflora of broiler chickens. Archiv Tierzucht, 53: pp 350-359.

Petersen M, Simmonds M S J. 2003. Rosmarinic acid. Phytochemistry, 62: 121-125.

Pietta P, Minoggio M, Bramati L. 2003. Plant polyphenols: Structure, occurrence and bioactivity. Studies in Natural Products Chemistry, 28 (1): 257-312.

Placha I, Takacova J, Ryzner M, Cobanova K, Laukova A, Strompfova V. 2014.Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. British Poultry Science, 55: 105–14.

Platel, K, Srinivasan K. 2004.Digestive stimulant action of spices: a mythor reality, Indian Journal of Medical Research, 119: 167–179.

Pourmahmoud B, Aghazadeh A M, Maheri Sis N. 2013. The effect of thyme extract on growth performance, digestive organ weights and serum lipoproteins of broilers fed wheat-based diets. Italian Journal of Animal Science, 336-341.

Rafatian G, Khodagholi F, Farimani M M, Abraki S B, Gardaneh M. 2012. Increase of autophagy and attenuation of apoptosis by salvigenin promote survival of SH-SY5Y cells following treatment with H2O2. Molecular and Cellular Biochemistry, 371(1): 9-22.

Raskovic A, Pavlovic N, Kvrgic M, Sudji J, Mitic G, Capo I, Mikov M.. 2015. Effects of pharmaceutical formulations containing thyme on carbon tetrachlorideinduced liver injury in rats. BMC Complementary Medicine, 15: 1-11.

Rasouli, B, Movahhedkhah S, Seidavi A, Imranul Haq Q M, Kadim I, Laudadio V, Mazzei D, Tufarelli V. 2019. Effect of sage (Salvia officinalis L.) aqueous leaf extract on performance, blood constituents, immunity response and ileal microflora of broiler chickens. Agroforestry Systems,15: 1-9

Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. 2009. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. inflammation & Allergy - Drug Targets, 8 (3): 229-235.

Ratledge C, Wilkinson SG. 1988. Fatty acids, related and derived lipids. In: Ratledge C, Wilkinson SG (Eds.). Microbial lipids, Academic Press, London, UK. 2-53.

Raus K, Pleschka S, Klein P, Schoop R, Fisher P. 2015. Effect of an echinacea-based hot drink versus oseltamivir in influenza treatment: A randomized, double-blind, double-dummy, multicenter, noninferiority clinical trial. Current therapeutic research, clinical and experimental, 77: 66-72.

Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Soliva-Fortuny R, Martin-Belloso O. 2009. Control of pathogenic and spoilage microorganisms in fresh cut fruits and fruit juices by traditional and alternative natural antimicrobials. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 8: 157-180.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Papaganga G .1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 4: 152-159.

Rocha-Guzman NE, Gallegos-Infante JA, Gonzalez-Laredo RF, Ramos- Gomez M, Rodriguez-Munoz ME. 2007. Antioxidant effect of oregano (Lippia berlandieri v. Shauer) essential oil and mother liquors. Food Chemistry, 102: 330-335.

Rodrigues M R, Kanazawa L K, das Neves T L, da Silva C F, Horst H, Pizzolatti M G, Santos A R, Baggio C H, Werner M F. 2012. Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated compounds from the leaves of Salvia officinalis in mice. Journal of Ethnopharmacology, 139 (2): 519-526.

Romeo V, Ziino M, Giuffrida D. 2007. Flavour profile of capers (Capparis spinosa L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS. Food chemistry, 101: 1272–8.

Rossoli I. Rezaei M B. 2002. Bioactivity and chemical properties of essential oils from Zataia multiflora and Mentha longifolia. Journal of Essenti Oil Research, 14: 141-146.

Ryzner M, Takáčová J, Čobanová K, Plachá I., Katarína Štefan Faix V. 2013. Effect of dietary Salvia officinalis essential oil and sodium selenite supplementation on antioxidative status and blood phagocytic activity in broiler chickens. Acta Veterinaria Brno, 82: 043–048.

Saadaoui E, Guetat A, Tlili N, El Gazzah M, Khaldi A. 2011. Subspecific variability of Tunisian wild populations of Capparis spinosa L. Journal of Medicinal Plants Research, 5 (17): 4339-4348.

Sang S, Lapsley K, Jeong WS, Lachance PA, Ho CT, et al. 2002. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (Prunus amygdalus Batsch). Journal of Agricultural and Food Chemistr, 50: 2459-2463.

Santos F H. R, De Paula M R, Lezier D, Silva J T, Santos G, Bittar C M M. 2015. Essential oils for dairy calves: Effects on performance, scours, rumen fermentation and intestinal fauna. Animal, 9: 958-965.

Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L .2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 45: 287-306.

Shahid F, Yang Z, Saleemi ZO .1998. Natural flavonoids as stabilizers. Journal of Food Lipids, 1: 69-75.

Shen D, Pan MH, Wu QL, Park CH, Juliani HR, 2010. LC-MS method for the simultaneous quantitation of the anti-inflammatory constituents in oregano (Origanum species). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58: 7119-7125.

Simmons R D, Bywater R J. 1991. Oral rehydration in the management of neonatal diarrhea in livestock. Compendium: Continuing Education for Veterinarians, 13: 345-348.

Soltan M. 2009. Effect of essential oils supplementation on growth performance, nutrient digestibility, health condition of Holstein male calves during pre- and post- weaning periods. Pakistan Journal of Nutrition, 8: 642-652.

Sonboli A, Babakhani B, Mehrabian A R. 2006. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from Salvia. U.S. National Library of Medicine, 61(3-4): 160-164.

Sozzi O C. 2001. Caper Bush: Botany and Horticulture, Horticultural Reviews, 27: 125-188.

Szigeti G, Palfi V, Nagy B, Ine E, Nagy G. 1998. New type of immune stimulant to increase antibody production generated by viral and bacterial vaccines. Magyar Allatorvosok Lapja, 120: 719-721.

Tabak M, Armon R, potasman I, Neman I. 1999. In vitro onhibition of Helicobacter pylorgi by extracts of thy me. Journal of Applied Bacteriology, 80 (6): 667-674.

Tager L R, Krause K M. 2011. Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 94: 2455-2464.

Tanaka T, Nishimura A, Kouno I, Nonaka G. Yang C R. 1997. Four new caffeic acid metabolites, yunnaneic acids E-H from Salvia yunnanensis. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 45: 1596-1600.

Tapas AR, Sakarkar DM, Kakde RB .2008. Flavonoids as nutraceuticals: A review. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7: 1089-1099.

Tassoul M D, Shaver R D. 2009. Effect of a mixture of supplemental dietary plant essential oils on performance of periparturient and early lactation dairy cows. Journal of Dairy Science, 92: 1734-1740.

Tesoriere L, Butera D, Gentile C, Livera M A. 2007. Bioactive components of caper (Capparis spinosa L.) from Sicily and antioxidant effects in a red meat simulated gastric digestion. Journal Agriculture Food chemistry, 55: 8465-8471.

Thomsen NK, Rindsig RB. 1980. Influence of similarly flavored milk replacers and starters on calf starter consumption and growth. Journal of Dairy Science, 63: 1864-1868.

Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele D. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 49: 2474-2478.

Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. Applied and Environmental Microbiology Journal, 68: 1561-1568.

Vakili A R, Khorrami B, Danesh Mesgaran M, Parand E. 2013. The Effects of Thyme and Cinnamon Essential Oils on Performance, Rumen Fermentation and Blood Metabolites in Holstein Calves Consuming High Concentrate Diet. Asian Australas. Journal of Animal Science, 26(7): 935-944.

Wang R, Zhang M, Mujumdar A S. 2010. Effects of vacumum and microrowave freeze drying on microstructure and quality of potato slices. Journal of Food Engineering, 101 (2): 131-139.

Wei A, Shibamoto T. 2007. Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 1737-1742.

Wichtl M.2004. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals: A Handbook for Practice on a Scientific Basis, 3rd edition. Medpharm GmbH Scientific Publishers.

Wilson N, Shah N P. 2007. Microencapsulation of Vitamins. ASEAN Food Journal, 14: 1-14.

Wojdyło A, Nowicka P, Grimalt M, Legua P, Soledad Almansa M, Amorós A, Antonio Carbonell-Barrachina A, Hernández F. 2019. Polyphenol Compounds and Biological Activity of Caper (Capparis spinosa L.) Flowers Buds. Plants, 8: 539- 558.

Wu X M, Branford-White C J, Yu D G, Chatterton NP, Zhu L-M. 2011. Preparation of core-shell PAN nanofibers encapsulated a-tocopherol acetate and ascorbic acid 2-phosphate for photoprotection . Colloids and Surfaces B, 82: 247-252.

Yang WZ, Chaves AV, He ML, Benchaar C, McAllister TA, 2006. Effect of monensin and essential oil on feed intake, milk yield and composition of lactating dairy cows. Canadian Journal of Animal Science, 86: 598.

Yap P, Krishnan T, Yiap B, Hu C, Chan K, Lim S. 2014. Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between Lavandula angustifolia (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant Escherichia coli. Journal of Applied Microbiology, 116: 1119-1128.

Yildirim A, Sekeroglu A, Koc H, Eleroglu H, Tahtali Y, Isil M, Duman M, Genc N. 2014. The Effect Of Dry Caper (Capparis Spinosa) Fruit On Egg Production And Quality

Characteristics Of Laying Hens. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 51(1): 217-224.

Yurtseven S, Cetin M, Sengul T, Sogut B. 2008. Effect of sage extract (Salvia officinalis) on growth performance, blood parameters, oxidative stress and DNA damage in partridges. The South African Journal of Animal Science, 38: 145–152

Zeng ZK, Li QY, Piao XS, Liu JD, Zhao PF, Xu X. 2014. Forsythia suspense extract attenuates corticosterone-induced growth inhibition, oxidative injury, and immune depression in broilers. Poultry Science, 93:1–8.

Zhang H, Ma Zh F. 2018. Phytochemical and Pharmacological Properties of Capparis spinosa as a Medicinal Plant. Nutrients, 10(2): 116.

Ziaei H, Nadeali N, Saeedi M, Soosaraei M, Niaz Jorjani O, Momeni Z, Fakhar M. 2017. effect of lavender essential oil and nanoemulsion on Trichomonas vaginalis in vitro. Journal of Kashan university of Medical Sciences, 21(4): 326-334.

Zimmermann B F, Walch S G, Tinzoh L N, Stuhlinger W, Lachenmeier D W. 2011. Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of Salvia officinalis L. (sage tea). Journal of Chromatography B, 879 (24): 2459-2464.

Zohary M. 1960. The species of Capparis in the Mediterranean and near Eastem Countries. - Bulletin of the Research Council of Israel, 8D: 49-64.

Effects of emulsified essential oils of a medicinal herbs mix on performance, nutrient digestibility, blood metabolites and immunity of suckling calves

Abstract

First Experiment: The purpose of this experiment was to investigate the effect of different levels of an emulsified essential oils blend on blood metabolites and the immune system of sucking calves. At first experiment, 40 suckling calves with an average body weight of 40.4±3 kg from the age of 7 days were used in a completely randomized design with 4 treatments and 10 replications. The experimental groups were: 1) control group, 2) calves receiving 100 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk, 3) calves receiving 200 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk, 4) Calves receiving 300 mg of a blend of essential oil per day as emulsified form via milk. Four medicinal plants including *Thymus kotschyanus*, *Lavandula angustifolia*, *Capparis spinosa* and *Salvia officinalis* were used to prepare the essential oils blend.The results showed that the experimental treatments did not affect dry matter intake and feed conversion ratio. Weight gain of 1-14 days and the whole period were not affected by feeding different levels of emulsified essential oils, but weight gain of 14-28 days and 28-43 days increased linearly ($P<0.01$). Blood concentrations of glucose, cholesterol and beta-hydroxybutyrate were not affected by a mixture of plant essential oils, but the concentrations of triglycerides and urea nitrogen in the blood increased and decreased linearly, respectively ($P<0.05$). Feeding the emulsified essential oil blend caused a significant linear decrease in blood concentrations of liver enzymes including aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase at 30 days and gamma-glutamyl transferase at 15 and 30 days ($P<0.05$). The concentrations of superoxide dismutase and glutathione peroxidase were not affected by the experimental treatments, whereas the blood concentration of malondialdehyde decreased and the blood antioxidant activity increased linearly by increasing essential oil levels ($P<0.05$). Feeding the micellar mixture of plant essential oil reduced linearly the excretion of lactobacilli and E. coli in the feces ($P <0.01$). Based on the results, the positive effects of the emulsified essential oil on improving the growth and health of sucking calves were observed and the level of 300 mg per day had the best results.

At second experiment, 50 male Holstein calves were used from the 7th day after birth (mean body weight 39.6 ±3.6 kg) to evaluating the effect of feeding a blend of plant essential oils, vitamin C and vitamin E on their performance, blood metabolites and the immune system. The experimental groups were: 1) control group (CON), 2) calves receiving 300 mg essential oil mixture per day as emulsified form, 3) calves receiving 600 mg vitamin C per day as emulsified form, 4) calves receiving 500 IU vitamin E per day as emulsified form and 5) calves receiving 300 mg essential oil blend with 600 mg vitamin C and 500 IU vitamin E per day as emulsified form. Feed intake, daily weight gain and conversion ratio were not affected by experimental treatments. Blood glucose and albumin concentrations were significantly affected by experimental treatments ($P<0.01$). Calves receiving vitamin E had higher glucose level and blood urea nitrogen concentration was significantly lower in calves receiving essential oil ($P<0.01$). The highest blood level of beta-hydroxybutyrate was observed in calves receiving essential oil with vitamins E and C ($P<0.05$). Blood levels of liver enzymes including aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and gamma-glutamyl transferase decreased at 30 days by experimental treatments ($P <0.01$). Glutathione peroxidase concentration was affected by experimental treatments at 15 and 30 days (P

<0.01). The lowest concentration of malondialdehyde and the highest blood antioxidant status were observed in calves receiving plant essential oil, vitamin E and vitamin C. According to the results, the use of the emulsified form of plant essential oil, vitamin C and vitamin E were effective in improving blood parameters related to health and oxidative status.

Keywords: plant essential oil, emulsion, suckling calf, performance, health.

ISLAMIC AZAD UNIVERSITY

SHABESTAR BRANCH

Faculty of Agriculture
Department of Animal Science
Ph.D. Thesis on Animal Nutrition

Subject

Effects of emulsified essential oils of a medicinal herbs mix on performance, nutrient digestibility, blood metabolites and immunity of suckling calves

Supervisors:

Dr. Hossein Abdi-Benemar

Dr. Naser Maheri-Sis

Co-Supervisors:

Dr. Ramin Salamatdoust-Nobar

Dr. Abdelfattah Z. M. Salem

By:

Mahdi Asghari

2021