بی ا یازات ان پایان دا ه تان عق دارد. ورت ا غاده از مام یا ی از طا

جلات، اس یا مرای ، باید م دا ه تان (یا ا تادیا اسا یدرا مای پایان)و م دا وباذ

أ زو ن ب وز ی از د مر یلات تعیی دا ه ود. مران ورت ورد یه د وی

ار وار .

دانشگاه لرستان

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

عنوان پایان نامه

تأثیرافزودن تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستانی به جیره بره های پرواری برکینتیک تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی(*In vitro*)

نگارش

سیده سهیلا نوشادی

استاد راهنما

دکتر آرش آذرفر

اساتید مشاور

دکتر داریوش علیپور

دکتر حشمت‌الله خسروی‌نیا

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته تغذیه دام

زمستان ۹۲

تقدیم به پدر و مادرم؛

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است؛

به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید؛

و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند.

تقدیر و تشکر

با سپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم...

موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم...

و عاشقانه سوختند تا روشنگر راهمان باشند...

پدرانمان

مادرانمان

استادانمان

ابتداء مراتب امتنان و قدردانیم را به استاد ارجمندم، جناب دکتر آرش آذرفر تقدیم می دارم چرا که بدون راهنماییهای ایشان نگارش این پایان نامه بسیار مشکل می نمود.

اساتید مشاور گرامیم، جناب دکتر داریوش علیپور و دکتر حشمت اله خسروی نیا به سبب راهنمودهای ارزنده کمال تقدیر و تشکر را دارم.

از جناب دکتر علیرضا چگنی و دکتر علی کیانی که در سمت اساتید داور زحمت خواندن این پایان نامه را متحمل شدند، قدردانی و تشکر می نمایم.

و در پایان از دانشجویان دانشگاه بوعلی سینای همدان، علی الخصوص آقایان میلاد مجنونی، علی حاتمی و سرکار خانم ها الهه واحدی، زهرا زمانی به دلیل همکاری بی دریغ ایشان جهت پیشبرد این پایان نامه سپاسگذارم. و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده اند.

چکیده

هدف از انجام این پژوهش بررسی تأثیر جایگزینی تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستانی به جای یونجه در جیره بره پرواری بر پویایی تولید گاز به روش آزمایشگاهی بود. در جیره‌های آزمایشی به‌ترتیب مقادیر صفر (تیمار شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد تفاله مرزه جایگزین یونجه گردید. جیره های آزمایشی براساس ۲۰ درصد علوفه و ۸۰ درصد کنسانتره تنظیم گردید. مایع شکمبه از سه رأس گوسفند نر بالغ فیستولاگذاری شده نژاد مهربان که از جیره با کنسانتره بالا تغذیه شده بودند تهیه شد. در سه دوره ی مجزا (سه ران) تولید گاز در ساعات ۱ تا ۱٤٤ بعد از انکوباسیون با استفاده از ۲۰۰ میلی گرم از هرکدام از تیمارها همراه با مایع بافری شکمبه اندازه گیری شد. در یک دوره ی مجزا، پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون مقدار گاز تولیدی، غلظت آمونیاک، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ظاهری و حقیقی ماده خشک، ضریب تفکیک کننده، تولید توده میکروبی، بازده تولید توده ی میکروبی و همچنین تعداد پروتوزوآ اندازه گیری شد. جایگزینی تفاله ی مرزه به جای یونجه تاثیر معنی داری بر تولید گاز در ساعات مختلف انکوباسیون و فراسنجه های پویایی گاز شامل مجانب تولید گاز، سرعت نسبی تولید گاز و نیمه عمر تولید گاز نداشت (P>۰/۰۵). میانگین غلظت آمونیاک در گاز تولیدی به طور معنی داری با جایگزینی تفاله ی مرزه به جای یونجه نسبت به جیره ی شاهد کاهش یافت (P<۰/۰۵). جیره های آزمایشی تاثیری بر غلظت کل اسیدهای چرب فرار نداشت (P>۰/۰۵). اگر چه جایگزینی تفاله ی مرزه به جای یونجه در سطوح ۷۵ و ۱۰۰ درصد قابلیت هضم ظاهری ماده ی خشک را به طور معنی داری نسبت به جیره ی شاهد کاهش داد (P<۰/۰۵)، ولی تأثیر معنی داری بر قابلیت هضم واقعی ماده ی خشک در شرایط آزمایشگاهی نداشت. در جایگزینی تفاله ی مرزه تا سطح ۷۵ درصد به جای یونجه تولید توده میکروبی و بازده تولید توده ی میکروبی در مقایسه با جیره ی شاهد گرایش به افزایش نشان دادند (P<۰/۰۱). جیره های آزمایشی تاثیری بر تعداد پروتوزوآ و ضریب تفکیک کننده نداشت. نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستانی در جیره ی بره پرواری می تواند با کاهش میزان تولید نیتروژن آمونیاکی، بدون تأثیر سوء بر قابلیت هضم ماده ی خشک، بازدهی مورد استفاده قرار گرفتن نیتروژن را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: پویایی تولید گاز، تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستانی، بره پرواری

عنوان | فهرست مطالب | صفحه

فصل اول مقدمه

۱-۱-مقدمه

فصل دوم بررسی منابع

۲-۱- ضرورت استفاده از متابولیتهای ثانویه گیاهی در تغذیه دام

۲-۱-۱- تعریف و شیمی اسانس‌ها

۲-۱-۱ نحوه عمل اسانس ها

۲-۲ خواص ضد میکروبی اسانس ها

۲-۳ اثر اسانس ها روی تخمیر میکروبی شکمبه

۲-٤ اثر اسانس ها روی تولیدآمونیاک

۲-۵ اثر اسانس ها روی پروتوزآی شکمبه

۲-٦ اثر اسانس ها روی قابلیت هضم وعملکرد شکمبه

۲-۷ اثر اسانس ها روی اسیدهای چرب فرار

۲-۸ اثر اسانس ها روی باکتریهای شکمبه

۲-۲-۲ ضرورت استفاده از مرزه خوزستانی

۲-۳-۱ برخی از روشهای برون تنی اندازه گیری متان دفع شده از نشخوارکنندگان

۲-۳-۲ آزمایش گاز هوهنهیم برای اندازه گیری تشکیل متان

فهرست مطالب صفحه

عنوان

فصل سوم مواد و روش ها

۳- ۱آماده سازی نمونه ها

۳-۲-۱ روش تولید گاز به روش آزمایشگاهی

۳-۲-۲گرفتن مایع شکمبه

۳-۲-۳تهیه بزاق مصنوعی

۳-۲-٤انتقال مخلوط بزاق مصنوعی و مایع شکمبه به داخل سرنگها

۳-۲-۵انکوباسیون سرنگها و ثبت تولید گاز

۳-۳-۱ گاز تست ۲٤ساعت

۳-۳-۲اندازه گیری کل اسیدهای چرب فرار

۳-۳-۳ مرحله تقطیر و تیتراسیون کل اسیدهای چرب فرار

۳-۳-٤ اندازه گیری میزان نیتروژن آمونیاک

۳-۳-٤-۱ معرف ها

۳-۳-٤-۲ روش اندازه گیری

۳-۳-٤- ۱ شمارش تعداد پروتوزوآ

۳- ۵ -۱آنالیز آماری داده ها

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل چهارم نتیجه گیری و بحث

فصل پنجم منابع

فهرست تصویر ها و نمودارها

عنوان صفحه

تصویر ۱-۱ دسته بندی سهم عوامل گوناگون انسانی در پخش شدن متان

تصویر ۱-۲ گیاه مرزه

تصویر ۱-۳ سرنگها ی شیشه ای مدرج

تصویر ۲-۳ گوسفند مجهز به فیستولای شکمبه ای

تصویر۳-۳ تا ٦-۳ مراحل آماده سازی محلول بزاق مصنوعی

تصویر۷-۳ حمام آب استفاده شده برای اندازه گیری تولید گاز

نمودار٤-۱ تأثیر سطوح مختلف تفاله مرزه بر میانگین تولید گاز در ساعات مختلف

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول۱- ۱ تکاپوهای انسانی ، ریشه پخش شدن متان
جدول ۱-۲ اثرات اسانس ها یا گیاهان غنی از اسانس روی تولید متان در شرایط آزمایشگاهی
جدول ۱-۳ مواد مغذی موجود در تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستان
جدول۲-۳ اجزاء تشکیل دهنده جیره‌های آزمایشی و محتوای مواد مغذی آنها
جدول۳-۳ محلولهای مورد استفاده در ترکیب بزاق مصنوعی
جدول٤-۱- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تفاله اسانس گیری شده مرزه خوزستانی بر تولید گاز و فراسنجه های حاصل از تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی
جدول ٤-۲- تأثیر جیره های آزمایشی بر تعداد پروتوزوآ، تولیدآمونیاک، غلظت کل اسیدهای چرب فرار، قابلیت هضم ظاهری و حقیقی ماده خشک در شرایط آزمایشگاهی، ضریب تفکیک کننده، تولید توده ی میکروبی و بازده تولید توده ی میکروبی

فصل اول

مقدمه

۱- ۱- مقدمه

در سال ۲۰۰٦ میلادی، سازمان خواربار و کشاورزی سازمان ملل متحد(FAO)[1] گزارشی تحت عنوان سایه بلند احشام در ٤۰۸ صفحه منتشرکرد، این تحقیق بیان می کرد که دام ها نقش ۱۸درصدی در تولید گرمایش زمین دارند، در این گزارش اشاره شده بود که سهم دامها در گرمایش زمین بیشتر از دی اکسید کربن تولید شده توسط وسایل نقلیه است.

بعد از انتشار گزارش فوق توسط FAO عده ای عقیده داشتند که ارقام ارائه شده در این گزارش مقدار اصلی تخریب زمین توسط دامداری صنعتی را فاش نمی کند، با این حال اخیرا" محققانی از موسسه« World Watch» گزارش معتبر دیگری را با عنوان «دام و تغییرات آب وهوایی» منتشر کرده اند که با بررسی ها ومحاسبات انجام شده درآن تأثیر دامها بر آب و هوای کره زمین حداقل ۵۱ درصد برآورد شده است. در این گزارش موارد دیگری از تخریب و آلودگی ناشی از پرورش صنعتی انواع حیوانات که به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر محیط زیست و گرمایش زمین تأثیر می گذارند محاسبه شده است، با این حال هنوز عقیده برآن است که این عدد می تواند بسیار بیشتر از ۵۱ درصد باشد (اکبرزاده۱۳۹۱).

متان یکی از گازهای گلخانه ای است که باعث گرمایش زمین می شود. عوامل انسانی گوناگونی در بخشهای مربوط به کشاورزی و صنعت در پخش شدن متان نقش دارند. نیمی از متان پخش شده توسط انسان مربوط به بخش کشاورزی است، دامداریها و شالیزارهای برنج که بستری برای فرآیندهای بی هوازی فراهم می کنند، نقش اصلی در تولید متان دارند (اکبرزاده۱۳۹۱).

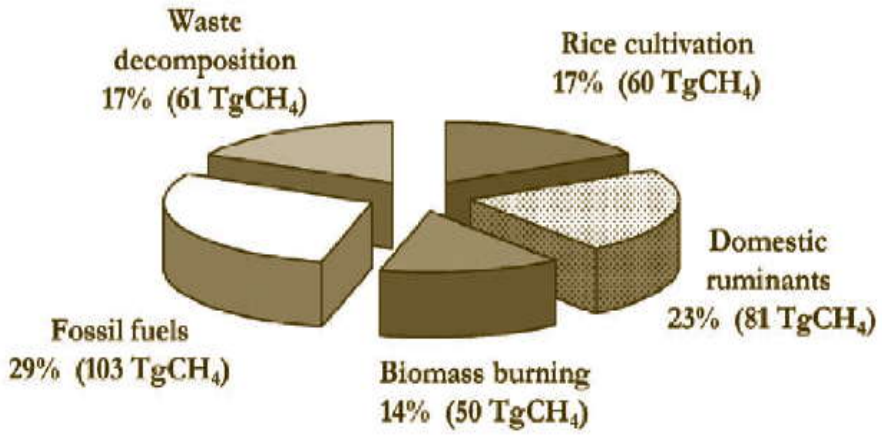
[1] -Food and Agriculture Organization

جدول ۱- ۱- منابع اصلی تولید متان از طریق فعالیت های مرتبط با انسان (Karakurt and Aydin, 2010)

انرژی	صنعت	کشاورزی	ترکیب های دفعی
زغال سنگ	فرآورده های شیمیایی	مدیریت کود	فاضلاب
گاز و نفت	فرآورده های آهن و استیل	تخمیر شکمبه ای	سوزاندن مواد دفعی
ایستگاه های سوخت	فرآوری فلز	کشت برنج	دفن زباله
سوخت های طبیعی	فرآورده های معدنی	و سایر	
	پتروشیمی		

در طی فرآیند تخمیر، میکروارگانیسم های شکمبه ی نشخوارکنندگان با هضم مواد مغذی ، اسید های چرب فرار و پروتئین میکروبی را سنتز می کنند. و از این طریق انرژی و پروتئین را برای نشخوارکنندگان فراهم می نمایند. اما این فرآیند همراه با هدر روی انرژی به صورت متان و پروتئین به صورت نیتروژن آمونیاکی است (Schelling, 1984)، که ممکن است عملکرد تولید را محدود کند وسبب آزاد سازی آلوده کننده های محیط زیست شود. گاز متان از خطرناک ترین گازهای گلخانه ای محسوب می شود که همواره به صورتهای مختلف از نشخوارکنندگانی نظیر گاو، گوسفند، گاومیش ، بز شتر و... دفع و در جو زمین منتشر می شود (Hansen, 2001).

انتشار متان نتیجه مستقیم فرآیندهای تخمیری توسط میکروارگانیسمهای شکمبه بخصوص باکتری های متانوژن است که هیدروژن را تصفیه کرده و از آن برای تولید متان استفاده می کنند (Zhou et al., 2011).



شکل ۱-۱ دسته بندی سهم عوامل گوناگون انسانی در پخش شدن متان (Wuebbles and Hayhoe, 2002).

با رشد بی سابقه جمعیت و تبلیغ مصرف گوشت و فرآورده های وابسته به آن، به عنوان غذای انسان تقاضا برای عرضه آن افزایش یافت. تحقیقات سازمان ملل نشان می دهد که از سال ۱۹۵۰ تا ۲۰۰۰میلادی جمعیت جهان کمی بیشتر از دو برابر شده و تولید گوشت به پنج برابر رسیده است. پیش بینی می شود که تا سال۲۰۵۰ میلادی جمعیت جهان به ۹ میلیارد نفر و تولید گوشت به دو برابر مقدار کنونی برسد که به تبع آن آلودگی های زیست محیطی ناشی از انتشار گازهای گلخانه ای نیز به دو برابر مقدار کنونی خواهد رسید (UNPD, 2008). در راستای تولید گوشت بیشتر، دامداری های سنتی تبدیل به دامداری های صنعتی شدند. که امروزه این شیوه ی پرورش دام تبدیل به یک عامل مهم در بحران گرم شدن زمین شده است. به همین دلیل امروزه استفاده از افزودنی های خوراکی با قابلیت مهار رشد گونه های خاصی از میکروارگانیسم های شکمبه و سایر بخش های دستگاه گوارش که منجر به کاهش تولید متان و آمونیاک می گردند، در جیره نشخوار کنندگان ضروری به نظر می رسد. متخصصین تغذیه استفاده از افزودنی های خوراکی همچون آنتی بیوتیکهای محرک رشد مانند مونسین و لازالوسید را پیشنهاد کردند (McGuffey et al., 2001). اگر چه استفاده از این ترکیبات باعث کاهش دفع گاز متان و آمونیاک می شود ولی ظهور بقایای آنها در تولیدات دامی و خطراتی که برای مصرف کنندگان دارند (مانند افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در پاتوژنهای انسانی) سبب گردیده تا استفاده از آنها در بسیاری از کشورهای توسعه یافته ممنوع شود (European Commission, 2003). برای حل این مشکل متخصصین تغذیه دام استفاده از مواد ارگانیک و طبیعی را برای افزایش بازده تخمیر شکمبه در جهت کنترل و یا پیشگیری از تولید متان و آمونیاک پیشنهاد کردند. استفاده از اسانسهای گیاهی نظیر زیره سبز، نعناع فلفلی، دانه زیره می تواند علاوه بر داشتن اثرات ضد باکتریایی آنتی بیوتیکها که از طریق شیر و محصولات دامی به انسانها منتقل می شوند سبب ایجاد طعم، رایحه

و تغییرخصوصیات فیزیکی و نیز بازار پسندی محصولات دامی گردد. اثرات مختلف اسانس ها بر تخمیر میکروبی شکمبه در مطالعات متعددی گزارش شده است (Cardozo et al., 2005 et al., Busqet 2006;). از این اثرات می توان کاهش دآمیناسیون اسیدهای آمینه (McIntosh et al., 2003)، افزایش اسیدهای چرب فرار شکمبه (Castilejos et al., 2005) و کاهش متان تولیدی در شکمبه (Kamra et al., 2005) را نام برد. از جمله گیاهان مهم حاوی اسانس مرزه خوزستانی با نام علمی *Satureja khuzistanica* است. میزان اسانس دهی گیاه مرزه سه تا پنج درصد وزن گیاه می باشد. از خصوصیات بارز اسانس مرزه خوزستانی وجود مقدار بالایی از کارواکرول (۹٤ درصد) و سایر ترکیبات فنولی ، تری ترپنوئیدها، استروئیدها، فلاون ها و تانن ها می باشد (Khosravinia et al., 2103). پس از اسانس‌گیری با بخار آب، تفاله باقیمانده به عنوان پسماند فرآیند تقطیر باقی می-ماند که بعد از خشک کردن در آفتاب می‌تواند به عنوان بخشی از جیره در تغذیه دام‌های نشخوار کننده مورد استفاده قرار گیرد و هزینه ی خوراک را تا حدودی کاهش دهد. مشخص شده است که با استفاده از روش تقطیر توسط بخار آب اسانس موجود در گیاه بطور کامل از آن استخراج نمی شود و تفاله باقیمانده حاوی حدود ۰/٦ درصد اسانس (بر اساس ماده ی خشک) می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف تفاله اسانس‌گیری شده مرزه خوزستانی، بر پویایی تولید گاز در شرایط برون تنی بود.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱- ضرورت استفاده از متابولیتهای ثانویه گیاهی در تغذیه دام

در تغذیه دام، آنتی بیوتیک ها معمولا برای جلوگیری از بیماری و ناهنجاری های متابولیکی، و همچنین بهبود بازده خوراک مصرفی، در مقادیر کم اما طولانی مدت مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال در سال های اخیر بروز مقاومت باکتریایی در برابر آنتی بیوتیک ها (که خطری برای سلامت انسان محسوب می شوند) باعث افزایش نگرانی های عمومی برای استفاده مدوام از آنتی بیوتیک ها در تغذیه دام شده است. در نتیجه تلاش های قابل توجهی برای یافتن و استفاده از مواد جایگزین برای آنتی بیوتیک ها به عمل آمده است. جایگزینی عصاره برخی از گیاهان به جای آنتی بیوتیکها فرصت مناسبی را برای صنعت پرورش دام و طیور فراهم نموده است (Wallace, 2004). بسیاری از گیاهان متابولیت های ثانویه ای همانند ساپونین و تانن ها تولید می نمایند که دارای خواص ضد میکروبی هستند. این ترکیبات می توانند تخمیر شکمبه ای نشخوارکنندگان را در جهت استفاده بهتر از مواد مغذی سوق دهند (Wang et al.,1996). فعالیت ضد میکروبی اثبات شده اسانس های گیاهی (EO)[1] و اجزاء فعال آنها، تعدادی از دانشمندان را بر آن داشته است تا پتانسیل این متابولیت های ثانویه را در تغییر تخمیر میکروبی شکمبه جهت بهبود بهره وری تولید در نشخوارکنندگان مورد بررسی قرار دهند. اسانس ها برخلاف نامشان، روغن واقعی (یعنی لیپید) نیستند و معمولا از ترکیبات ایجاد کننده رایحه، عطر، و یا Essentia Quinta مشتق شده از گیاهان هستند (Benchaar et al., 2007). اسانس‌ها تا حد زیادی برای مصارف انسانی و حیوانی بی خطر هستند، و به طور کلی جزو مواردی می باشند که در ایالات متحده آمریکا به عنوان سالم شناخته می شوند طبقه بندی می گردند. خواص ضد میکروبی اسانس‌ها بر علیه طیف گسترده ای از میکروارگانیسم ها، از جمله باکتریها، تک یاخته‌ای‌ها و قارچ‌ها اثبات شده است. اسانس ها همچنین به خاطر تأثیر داشتن برضد طیف وسیعی از پاتوژن های مواد غذایی، در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. به عنوان مثال رشد اشرشیاکلی با اسانس مرزنگوش و دو جزء اصلی آن یعنی کارواکرول و تیمول مهار می شود (Helander et al.,1998).

۲-۱-۱- تعریف و شیمی اسانس‌ها

اسانس‌ها، که به عنوان روغن های فرار یا اتری نیز شناخته می شوند در گیاهان خوراکی، دارویی و علفی یافت می شوند. چون این ترکیبات معطر تا حد زیادی فرار هستند، معمولا توسط تقطیر با بخار یا توسط حلال آلی، استخراج می گردند. اسانس ها را می توان از بسیاری از بخش های گیاه از

[1] - Essential oils.

جمله برگ، گل، ساقه، دانه، ریشه و پوست استخراج نمود. با این حال، ترکیب اسانس‌ها می تواند در میان بخش های مختلف گیاه متفاوت باشد (Dorman et al., 2000). به عنوان مثال ترکیب اسانس به دست آمده از دانه های گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) با اسانس حاصل از برگ های نابالغ همان گیاه متفاوت است. تفاوت های شیمیایی موجود در میان اسانس های گیاهان به خصوصیات ژنتیکی، سن گیاه و محیطی که در آن گیاه رشد می کند نیز بستگی دارد. از نظر شیمیایی، اسانس‌ها مخلوطی از ترپنوئیدها، عمدتا مونوترپن‌ها(C10)، سزکویی ترپن ها (C15)، دی ترپن ها (C20) هیدروکربن های آلیفاتیک با وزن مولکولی کم، اسیدها، الکل ها، آلدئیدها، فنولها و هومولوگ های فنیل پروپانوئیدها می باشند (Dorman et al., 2000).

۲-۱-۱- نحوه عمل اسانس ها

برای توضیح مکانیسم اثرات ضد میکروبی اسانس‌ها چند نظریه پیشنهاد شده است. با توجه به اینکه اسانس‌ها از تعداد زیادی اجزاء تشکیل شده اند، فعالیت ضد باکتریایی آنها به دلیل یک مکانیسم عمل خاص نیست بلکه شامل اهداف متعددی در سلول باکتری می باشد (Skandamis et al., 2001). متابولیت های ثانویه گیاهی از جمله اسانس‌ها با طیف گسترده ای از اجزای سلولی واکنش می دهند و می توانند پاسخ های متفاوتی ایجاد نمایند (Acamovic and Brooker, 2005). اعتقاد بر این است که اکثر اسانس‌ها فعالیت های ضد میکروبی خود را از طریق اختلال در فرآیندهای مرتبط با غشای سلولی باکتری ها، از جمله انتقال الکترون و تغییر در شیب یونی اعمال می کنند (Dorman et al., 2000). تیمول موجود در روغن آویشن (*Thymus vulgaris*) و کارواکرول روغن مرزنگوش (*Origanum vulgaris*) هر دو غشای سلولی را تخریب می کنند و در نتیجه موجب کاهشATP ذخیره‌ای داخل سلولی و افزایش ATP ذخیره‌ای خارج سلولی در اشرشیا کلی می شوند (Helander etal., 1998). اسانس‌ها به علت طبیعت آبگریز خود تمایل زیادی برای پیوند با لیپیدهای غشای سلول باکتری دارند و خواص ضد باکتریایی آنها بطور آشکار به خاصیت چربی دوستی آنها مربوط است. این مکانیسم تابعی از خواص چربی دوستی اجزای تشکیل دهنده اسانس‌ها و قدرت گروه های فعال آنها است (Dorman and Deans, 2000). باکتری های گرم مثبت حساسیت بیشتری به خواص ضد باکتریایی ترکیبات اسانس‌های گیاهی نسبت به باکتری های گرم منفی دارند. باکتری های گرم منفی دارای یک لایه خارجی در اطراف دیواره سلولی خود می باشند که به عنوان یک سد نفوذناپذیر عمل می کند و دسترسی ترکیبات آبگریز را به دیواره ی سلولی خود از این طریق محدود می نمایند (Burt, 2004). با این حال گزارش شده است تیمول (به عنوان یک ترکیب فنلی) و

کارواکرول رشد باکتری های گرم منفی را نیز با تخریب غشاء بیرونی سلول مهار می نمایند. به نظر می رسد که وزن مولکولی کم اسانس‌ها اجازه می دهد تا به راحتی بتوانند به غشای داخلی باکتریهای گرم منفی نفوذ نمایند.

۲-۲- خواص ضد میکروبی اسانس ها

فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها بر علیه طیف گسترده ای از میکروارگانیسم ها، از جمله باکتری های گرم مثبت و گرم منفی اثبات شده است (Benchaar et al., 2007). فعالیت های ضد میکروبی اسانس‌ها به تعدادی از ترکیبات ترپنوئیدی، فنلی، همچنین ترکیبات شیمیایی و گروه های فعال موجود در اسانس‌ها و فعل و انفعالات بین آنها نسبت داده می شود (Helander et al., 1998). در بین اجزای اسانس‌ها اثرات افزایشی، آنتاگونیستی و سینرژیستی مشاهده می شود. با ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس پونه کوهی و دو ترکیب اصلی آن تیمول و کارواکرول بر علیه استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا مشاهده شد که مخلوط تیمول و کارواکرول فعالیت ضد باکتریای بالاتری نسبت به هر یک از آنها به تنهایی دارد. اثر مهارکنندگی اسانس پونه کوهی عمدتا به دلیل اثر افزایشی ضد باکتریایی این دو ترکیب یعنی تیمول و کارواکرول می باشد (Lambert et al., 2001). در یک پژوهش، فعالیت ضد میکروبی روغن خام و اجزاء تقطیری شوید (*Anethum graveolens L.*) دانه گشنیز (*Coriandrum sativum L.*) برگ گشنیز نابالغ (*C. ativum L.*) و اوکالیپتوس(*Eucalyptus dives*) در برابر بعضی از انواع رایج باکتری های گرم مثبت و گرم منفی ایجاد کننده فساد مواد غذایی (به عنوان مثال سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسیتوژن، استافیلوکوک اورئوس، سراتیا گریمسی، انتروباکتر آگلومرانز، یرسینیا انتروکولیتیکا و باسیلوس سرئوس) بررسی شد (Delaquis et al., 2002). نتایج این پژوهش نشان داد که اندازه و طیف فعالیت ضد باکتریایی اجزاء تشکیل دهنده اسانس ها غالبا" بیشتر از عصاره اتری یل چربی خام است). به عنوان مثال اسانس شوید خام فعالیت ضد میکروبی ضعیفی دارد در حالی که اجزاء تقطیری اسانس شوید حاوی غلظت های بالاتری از ترکیبات شیمیایی اصلی آن نظیر دی لیمونن و کاروون است که فعالیت ضد میکروبی بالاتری را نشان می دهند (Delaquis et al., 2002). در بررسی فعالیت ضد باکتری شش جزء اصلی اسانس‌های درختان مخروط دار (به عنوان مثال α- پینن، R و S- لیمونن، ۱، ۸ سینئول و بورنئول) بر ضد باکتری لیستریا مونوسیتوژن به استثناء ۱، ۸ سینئول تمام اجزاء منفرد فعالیت باکتریوستاتیک بالاتری از روغن کاج داشتند (Canillac and Mourey 2001).

۲- ۳- اثر اسانس ها بر تخمیر میکروبی شکمبه