مقاله تحقیقی
مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۲، ۲۳۴-۲۲۷
Journal of Veterinary Research. 70,2: 227-234, 2015
Original Article

تأثیر اسانس مرزه خوزستانی بر pH پس از کشتار و پتانسیل آنتی اکسیداتیو عضله سینه مرغ گوشتی تحت تنش گرمایی

حشمت اله خسروی نیا[۱*] مسعود علیرضایی[۲] صدیقه قاسمی[۳] شیما نعمتی[۴]

۱) گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، خرم آباد-ایران
۲) بخش بیوشیمی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم آباد-ایران
۳) لابراتوار تحقیقات کاربردی گیاهان دارویی خرمان، لرستان، خرم آباد-ایران
۴) مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد-ایران

(دریافت مقاله: ۲۲ دی ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۴ فروردین ماه ۱۳۹۴)

چکیده

زمینه مطالعه: تأمین منابع آنتی اکسیدانی از طریق خوراک یا آب برای مرغ گوشتی ضمن کاهش اثرات زیانبار رادیکال‌های آزاد در بدن پرنده متأثر از تنش گرمایی، به افزایش پتانسیل آنتی اکسیداتیو و پایداری لیپیدها در بافت‌های مختلف کمک می‌کند. **هدف:** این مطالعه به منظور بررسی تأثیر اسانس مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica*) بر تغییرات پس از کشتار pH و پتانسیل آنتی اکسیداتیو عضله سینه در مرغ گوشتی اجرا شد. **روش کار:** تعداد ۷۲۰ قطعه جوجه یکروزه سویه آرین تهیه و اثر شش تیمار آزمایش شامل سطوح ۰mg/L، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ اسانس مرزه خوزستانی و ۵۰۰mg/L پلی سوربات-۸۰ در آب آشامیدنی، در ۶ تکرار (شامل ۲۰ پرنده)، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، طی ۴۲ روز بررسی شد. فعالیت آنزیم کاتالاز (با استفاده از روش کینتیکی)، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز (با استفاده از کیت‌های راندوکس) بوسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. میزان پراکسیداسیون لیپید با سنجش میزان مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) به روش شیمیایی در عضله سینه انجام گرفت. **نتایج:** وزن سینه، pH اولیه و نهایی عضله سینه مرغ در سن ۴۲ روزگی، تحت تأثیر افزودن اسانس مرزه به آب آشامیدنی قرار نگرفت ($p<0/05$). سطوح بالاتر از ۲۰۰mg/L اسانس مرزه، میزان TBARS موجود در عضله سینه را به طور معنی‌داری کاهش داد ($p>0/05$). فعالیت آنزیم کاتالاز در عضله سینه پرندگان دریافت کننده آب حاوی اسانس، بالاتر از گروه‌های شاهد بود. فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در عضله سینه مرغ‌های دریافت کننده سطوح ۴۰۰mg/L و ۵۰۰ اسانس مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از مرغ‌های دریافت کننده آب فاقد اسانس بود ($p>0/05$). افزودن اسانس مرزه به آب تا سطح ۴۰۰mg/L باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز عضله سینه گردید ($p>0/05$). **نتیجه گیری نهایی:** افزودن اسانس مرزه خوزستانی به آب آشامیدنی مرغ گوشتی تحت تنش گرمایی، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپید، موجب افزایش پتانسیل آنتی اکسیداتیو عضله سینه مرغ می‌شود.

واژه‌های کلیدی: عضله سینه، تنش گرمایی، آنتی اکسیدان فیتوژنیک، مرزه خوزستانی

مقدمه

رادیکال‌های آزاد اکسیژن بدلیل میل ترکیبی بالا برای واکنش با بیوملکول‌های مهم از جمله اسیدهای نوکلئیک، اسیدهای چرب و پروتئین‌ها، باعث آسیب به غشاها، آنزیم‌ها، گیرنده‌ها و سایر ساختارهای سلولی در بافت‌های مختلف بدن مرغ می‌شوند (۱۳). در شرایط تنش گرمایی، تولید رادیکال‌های آزاد در بدن مرغ افزایش می‌یابد (۲۵،۳۴). اگرچه بدن مرغ با دو نوع سازوکار آنزیمی و غیرآنزیمی رادیکال‌های آزاد را خنثی و از بروز تبعات منفی آنها جلوگیری می‌کند (۱۴) اما با افزودن آنتی اکسیدان‌ها به خوراک یا آب، به خصوص در شرایط تنش‌زا همچون دمای بالای محیط، می‌توان پرنده را در مقابله با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد حمایت نمود (۲۵). آنتی اکسیدان‌های مصنوعی و طبیعی متعددی به عنوان افزودنی خوراک برای طیور وجود دارد. نتایج گزارشات مختلف مبنی بر خاصیت سرطانزایی برخی آنتی اکسیدان‌های مصنوعی(۱۲)، تلاش بیشتری را به سمت استفاده از منابع آنتی اکسسیدان طبیعی سوق داده است. از جمله این نوع آنتی اکسیدان‌ها، فراورده‌های حاصل از گیاهان دارویی یا افزودنی‌های فیتوژنیک هستند. عصاره، اسانس و پودر برخی از گیاهان دارویی، علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی به دلیل تأثیر مثبت بر جوانب مختلف متابولیسم طیور و عدم بر جای گذاشتن باقیمانده مضر در بافت‌های بدن، مصرف کنندان نگران از عدم سلامت گوشت مرغ تغذیه شده با جیره حاوی مواد شیمیایی مصنوعی، را امیدوار به مصرف محصولات سالم نموده است. لذا، در سال‌های اخیر تأثیر بسیاری از گیاهان دارویی بر عملکرد طیور مورد بررسی قرار گرفته است (۲۸). علاوه بر این، نشان داده شده است که استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی در جیره غذایی طیور گوشتی موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در خوراک و بافت‌های مختلف بدن آنها می‌شود (۷). Jang و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش نمودند که استفاده از سطوح ۰/۳ و ۱٪ فراورده ای فیتوژنیک (مخلوط اسانس چند گیاه)، موجب افزایش پتانسیل آنتی اکسیداتیو عضله سینه مرغ شد. نتایج مشابهی برای استفاده از اسانس مرزنجوش، تفاله گوجه فرنگی و آلفا توکوفرول استات در افزایش پایداری اکسیداتیو بافت‌های مختلف در بلدرچین (۲) خرگوش

*) نویسنده مسئول: تلفن: ۰۶۶-۳۳۴۰۰۱۲۶، نمابر: ۰۶۶-۳۳۴۰۰۲۸۹، Email: Khosravi_fafa@yahoo.com

(۳) و بوقلمون (۴) گزارش شده است. علاوه بر این، افزودنی‌های فیتوژنیک حاصل از برخی گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن ترکیبات فعال با خواص آنتی اکسیدان، باعث بهبود شـرایط فیزیولوژیک بدن مرغ گوشتی تحت تنش ناشی از پرتوهای انرژی‌زا (۲۲،۲۳)، دمای بالای محیط (۲۳۴) و تراکم گله بالا (۳۳) شده است.

مرزه خوزسـتانی از جمله گیاهان دارویی است که افزودن اسانس آن به آب آشامیدنی تا سطح ۲۰۰۰mg/L، مسمومیت کبدی و کلیوی در مرغ گوشـتی ایجاد نمی‌کند (۱۷). ترکیبات اصلی اسـانس این گیاه فنل‌هایی مثل کارواکرول (بالغ بر ۹۰ ٪)، پاراسیمین، بتا کاریوفیلین و لینالول هستند. خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی تأیید شده است (۲۳). این مطالعه به منظور بررسی تأثیر افزودن اسانس مرزه خوزستانی به آب آشامیدنی بر تغییرات پس از کشتار pH و پتانسیل آنتی اکسیداتیو عضله سینه در مرغ گوشتی تحت تنش گرمایی اجرا شد.

مواد و روش کار

تهیه اسانس مرزه خوزستانی: بخش‌های هوایی گیاه مرزه خوزستانی طی مرحله گلدهی از مزرعه گیاهان دارویی شرکت دارو سازی خرمان، خرم آباد، لرستان، به صورت دستی برداشت و در سایه خشک گردید. توده گیاه خشک شده در سیستم مشابه با دستگاه کلونجر ریخته شد و سه برابر وزن گیاه، آب به آن اضافه گردید. اسـانس موجود در گیاه به مدت پنج سـاعت به صورت تقطیر با آب اسـتخراج شد. اسـانس جمع آوری شده با استفاده از سـولفات سدیم آبگیری و سپس در دمای۴°C نگهداری شد. یک نمونه تصادفی از کل اسانس استحصالی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی بر اساس روش مورد استفاده توسط Hadian و همکاران در سال ۲۰۱۱ آنالیز گردید. ترکیبات فعال اصلی موجود در اسانس مرزه خوزستانی مورد استفاده در این آزمایش در جدول ۱ ارایه شده است.

مدیریت گله آزمایشـی: در این آزمایش اثر شش تیمار شامل افزودن مسـتمر ۵ سطح اسـانس مرزه (۰mg/L، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰) و یک سطح توئین (۵۰۰mg/L)، به آب آشامیدنی، در ۶ تکرار و هر تکرار مشتمل بر ۲۰ جوجه (در مجموع ۷۲۰ جوجه سویه آرین) در طی ۴۲ روز بررسی شد. تکرارهای آزمایش به صورت بلوک‌های متشکل از ۶ پن حاوی تراکم‌های همسان جوجه در هر متر مربع بود. چهار جیره تنظیم شده بر مبنای ذرت و سویا شامل سوپر استارتر، استارتر، رشد و پایانی به ترتیب از ۱ تا ۷، ۸ تا ۲۱، ۲۲ تا ۳۵ و ۳۶ تا ۴۲ روزگی برای مصرف آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. در طول دوره پرورش دسترسی به آب آزاد و تمام جوجه‌ها تا حد اشتها تغذیه شدند. دمای محیط پروش مرغ‌ها در ۳ هفته پایانی به طور متوسط ۴°C تا ۶ بالاتر از دماهای توصیه شده برای پرورش مرغ گوشتی نگه داشته شد.

سـنجش متغیرها: در سن ۴۲ روزگی از هر تکرار یک خروس (با وزن متوسـط پن) انتخاب و ذبح شـد. میزان pH اولیه و نهایی سینه برای هر نمونه، به ترتیب ۱۵ دقیقه و ۲۴ سـاعت پس از ذبح با استفاده از pH متر دارای پروب قابل فرو کردن در بافت گوشـت به طور مستقیم اندازه‌گیری شـد. پس از اندازه‌گیری pH اولیه، نمونه‌ای ۱۰ گرمی از عضله سینه هر پرنده تهیه و در برودت ۸۰°C- نگهداری شد. برای سنجش‌های آنزیمی، در زمان انجام آزمایش، نمونه‌ها از حالت انجماد خارج و به صورت دسـتی با بافر فسـفات (۰/۱mol حـاوی EDTA ۵ mmol با pH=۷/۴) بر روی ازت مایع هموژنیزه شـد. سپس با استفاده از سانتریفوژ (۱۰ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه)، مواد جامد آن ته نشـین و محلول بالائی برای آزمایشـات بیوشیمیائی جدا گردید.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسـیداز با اسـتفاده از کیـت ارزیابی این آنزیم بر اساس دستورالعمل سـازنده آن (راندوکس، انگلیس) اندازه‌گیری شـد. ارزیابی فعالیت بوسیله اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک در طول موج ۳۴۰nm انجام گرفت. فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز بصورت واحد آنزیم در میلیگرم پروتئین بافت بیان گردید. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با اسـتفاده از کیت ارزیابی فعالیت این آنزیم‌ها بر اساس دستورالعمل سازنده آن (راندوکس، انگلیس) اندازه گیری شد. یک واحد از سوپراکسید دیسموتاز مقداری اسـت که موجب مهار ۵۰٪ از واکنش احیـاء ۲-۴-یدوفنیل ۳-۴ نیتروفنل ۵-فنیل تترازولیوم تحت شرایط آزمایش می‌شود. ارزیابی فعالیت آنزیم بوسـیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۵nm انجام گرفت و مقدار آنزیم در بافت بصورت واحد در میلی گرم پروتئین بافت بیان گردید. اندازه گیـری فعالیت کاتالاز طبـق روش Claiborne در سـال ۱۹۸۶، صورت گرفت. فعالیت آنزیم بصورت واحد در میلیگرم پروتئین بافت بیان گردید.

میـزان پراکسیداسـیون چربی در بافت سـینه بوسـیله تعیین مقدار TBARS اندازه گیری شد. برای این سنجش، بطور خلاصه ۴۰µL از بافت هموژنیزه به ۴۰µL سـدیم کلرید ۰/۹٪ و ۴۰µL آب مقطر اضافه گردید و در دمای۳۷ °C بمدت ۲۰ دقیقه قرار داده شـد. سپس با استفاده از ۶۰۰µL اسید هیدروکلریک ۰/۸ mol که حاوی تری کلرواستیک اسید ۱۲/۵٪ بود واکنش متوقف گردید. پس از اضافه نمودن ۷۸۰µL تیوباربیتوریک اسـید ۱٪، محلول بمدت ۲۰ دقیقه جوشـانده شـد و در دمای ۴ °C سرد گردید. محلول سـرد بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس میزان جـذب نـور آن در طول مـوج ۵۳۲ nm در مقابل بلانک، برای محاسـبه مقـدار TBARS بکار گرفته شـد و با اسـتفاده از ضریب خاموشـی مولی (۱/۵۶×۱۰^۵/Cm×mol) میزان مواد واکنش دهنده با اسید تیوباربیتوریک بعنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید محاسبه گردید (۱). این میزان بصورت nmol/g پروتئین بافت بیان گردید.

آنالیز آماری داده‌ها: اثر اسانس مرزه بر صفات مورد نظر با استفاده مدل آماری زیر و PROC MIXED نرم افزار SAS (۲۶) آنالیز شد.

$$Y_{ijk}=\mu+ EO_i+ B_j+\varepsilon_{ijk}$$

در ایـن مدل Y_{ijk} نماد متغیر وابسـته، µ: بیانگر میانگین جامعه برای

متغیر مورد نظر، EOi: نشـانگر اثر ثابت i امین سطح اسانس مرزه در آب (۴، ۳، ۲، ۱=i)، Bj: نمـاد اثر تصادفی j امین بلـوک (۶،...، ۲، ۱=j) و ε_{ijk}: خطای جزء مربوط به هر مشـاهده برای هر متغیر اسـت. آزمون Fisher protected LSD بـا اسـتفاده از گزینـه LSMEANS در نرم افزار SAS برای مقایسـه میانگین‌های تیمارها برای هر متغیر به کار گرفته شـد. در تمام آزمون‌ها سـطح حداکثر احتمال قابل قبول برای خطای نوع اول ۵٪ (p≤۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

نتایج

افزودن سـطوح ۲۰۰ تا ۵۰۰ اسـانس مـرزه در آب آشـامیدنی تأثیر معنی‌داری بر میانگین وزن سینه، pH اولیه (pH ۱۵) و pH نهایی عضله سـینه مرغ گوشتی در سن ۴۲ روزگی نداشت (جدول ۲؛ p>۰/۰۵). میزان TBARS بر حسـب نانو مول بر گرم پروتئین برای مرغ‌های دریافت کننده آب فاقد اسانس مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از همه گروه‌ها به جز پرندگان تحت تیمار ۲۰۰ mg/L اسـانس بـود (p<۰/۰۵؛ نمودار ۱). فعالیت آنزیم کاتالاز در عضله سـینه پرنده‌های دریافت کننده سـطوح افزایشی اسانس مرزه به طور معنی‌داری بالاتر از پرنده‌های شـاهد بود (p<۰/۰۵). افزایش فعالیت این آنزیم در عضله سـینه رابطه خطی قـوی (r=۰۲/۹۳) با میزان اسـانس مرزه در آب داشت (نمودار ۲). مصرف مداوم مقادیر ۲۰۰mg/L تا ۵۰۰mg/L اسـانس مرزه خوزستانی از طریق آب آشامیدنی موجب تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسـیداز موجود در عضله سـینه پرنده‌ها در سـن ۴۲ روزگی شد (p =۰/۰۳۰۰: نمودار ۳). استفاده از اسانس مرزه به مقدار ۴۰۰mg/L بیشترین فعالیت آنزیم مذکور را به دنبال داشت و سـطوح پایین تر اسانس (۲۰۰mg/L و ۳۰۰) تأثیر معنی‌داری در فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در مقایسه با گروه شاهد نداشت. مصرف اسانس مرزه از طریق آب آشـامیدنی تا سـطح ۴۰۰mg/L، موجب افزایش خطی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسـموتاز (SOD) در عضله سینه مرغ در سن ۴۲ روزگی شد (p=۰/۰۴۱۳، نمودار ۴). اما افزایش میزان اسانس در آب به ۵۰۰ mg/L، باعث کاهش فعالیت این آنزیم گردید.

بحث

کاهش pH گوشـت مرغ پس از کشـتار عامل مهمـی در ممانعت از فعالیت‌های میکروبی، افزایش ماندگاری و بهبود خصوصیات ارگانولپتیک آن اسـت (۳۱). میزان pH نهایی گوشت (۲۴ ساعت پس از کشتار) تحت تأثیر مقدار ذخیره گلیکوژن عضلات قرار دارد که این خود متأثر از وضعیت سلامت و آسایش پرنده و تغذیه آن در ساعات قبل از کشتار است. در این آزمایش، وجود اسانس مرزه در آب تأثیر مثبت بر افزایش ذخایر گلیکوژن و به تبع آن کاهش pH نهایی عضله سینه پرنده‌ها در مقایسه با پرنده‌های شاهد نداشـت. Simitzis و همکاران در سـال ۲۰۰۸ گزارش نمودند که

جدول ۱. اجزای اصلی اسانس مرزه خوزستانی مورد استفاده در آزمایش (درصد از تمام اسانس).[۱] مقادیر جدول به صورت خطای معیار ± میانگین می‌باشند.

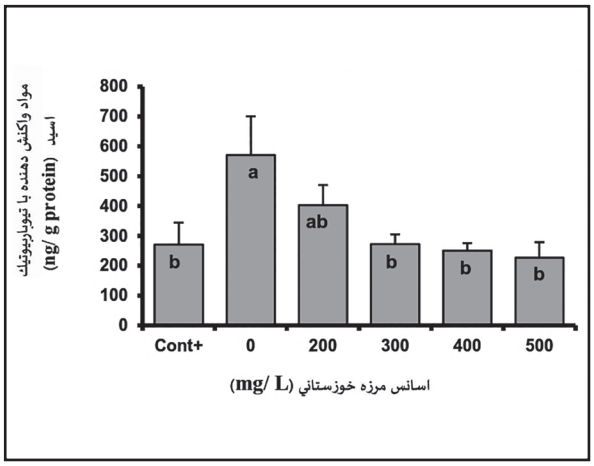
ردیف	ترکیب شیمیایی	درصد[۱]
۱	Carvacrol	۹۲/۱۶±۰/۴۶
۲	p-Cymene	۱/۲۶ ±۰/۸۶
۳	γ-Terpenene	۰/۷۴ ±۰/۲۳
۴	(Z)- β-Oeimene	۰/۵۴ ±۰/۰۸
۵	α -terpinole	۰/۴۲ ±۰/۴۵
۶	α-Terpinene	۰/۲۴ ±۰/۱۲
۷	α-Thujene	۰/۲۴ ±۰/۱۴
۸	Myreene	۰/۲۶ ±۰/۱۹
۹	trans-Sabinene hydrate	۰/۱۷ ±۰/۰۲
۱۰	β -Caryophyllence	۰/۱۶ ±۰/۰۱
۱۱	α- Pinene	۰/۱۵ ±۰/۰۵
۱۲	Trans- β- Bisabolene	۰/۱۰ ±۰/۰۱
۱۳	Limonene	۰/۱۳ ±۰/۰۴

جدول ۲. تأثیر (میانگین±خطای معیار) اسانس مرزه خوزستانی (mg/L) بر وزن سینه (g) و میزان pH اولیه (pH۱۵)۱ و نهایی (pHu)۲ عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. [۱] مقدار pH عضله ی سینه طی ۱۵ دقیقه پس از کشتار، [۲]مقدار pH عضله ی سینه ۲۴ ساعت پس از کشتار. [۳] خطای معیار برای میانگین کل.

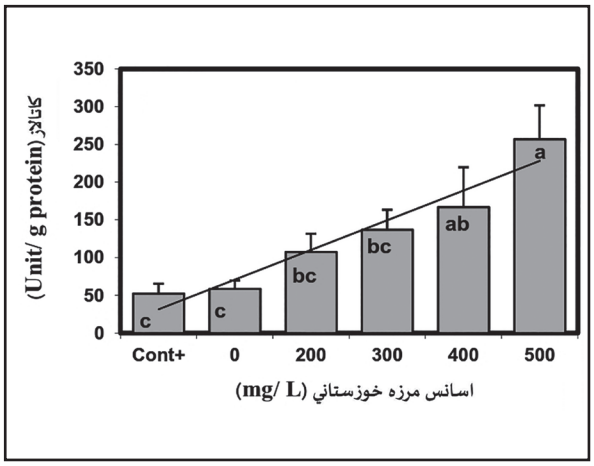
اسانس مرزه	وزن سینه	pH۱۵	pHu
کنترل +	۴۲۲±۲۰/۲۱	۶/۱۴±۰/۱۹	۵/۷۷±۰/۰۶
کنترل -	۴۲۴±۱۷/۴۸	۶/۴۱±۰/۲۰	۵/۸۰±۰/۰۵
۲۰۰	۳۹۵±۲۵/۳۸	۶/۲۴±۰/۱۶	۵/۸۱±۰/۰۴
۳۰۰	۴۲۶±۲۳/۵۷	۵/۹۸±۰/۱۶	۵/۷۸±۰/۰۳
۴۰۰	۴۴۹±۱۱/۴۳	۶/۰۷±۰/۱۱	۵/۸۰±۰/۰۶
۵۰۰	۴۳۸±۴/۸۷	۶/۰۵±۰/۱۴	۵/۷۶±۰/۰۴
SEM۳	۷/۵۷	۰/۰۷	۰/۰۲
	(F< P)		
اسانس مرزه	۰/۴۴۹۶	۰/۴۶۶۳	۰/۹۷۵۱

با افزودن اسـانس مرزنجوش به جیره غذایی، pH گوشـت بره‌های ماده افزایش یافت. محققین مذکور تأثیر افزودنی‌های جیره غذایی بر تغییر pH گوشت گاو، کاهش ذخیره گلیکوژن عضلات بره‌ها در ساعات قبل از کشتار را برای توجیه یافته‌های خود مطرح کردند. در همین راسـتا، گزارش شده است که افزودن پودر سیر به جیره غذایی موجب افزایش pH گوشت خوک گردید. با این وجود، Park and Yu در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که افزودن ۴ و ۸٪ تفالـه گیاهان دارویی به جیـره غذایی باعث کاهش معنی‌دار pH عضله ران در مرغ گوشتی می‌شود.

قابلیـت آنتـی اکسـیدانی عامـل مهمـی در مقابل اثـرات مخرب رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسـیون لیپیـد در بافت‌های مختلف بدن مرغ اسـت. تولید رادیکال‌های آزاد در واکنش‌های زنجیـره انتقال الکترون در سـلول‌های هوازی و استرس اکسـیداتیو حاصل از آنها موضوعی اجتناب ناپذیر به خصوص در شرایط تنش گرمایی است. رادیکال‌های آزاد با حمله

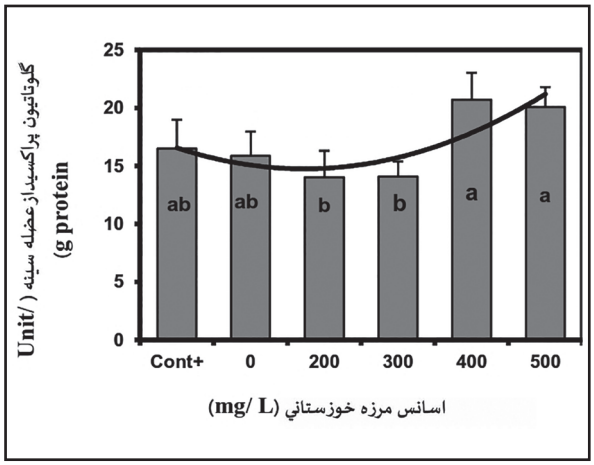


نمودار ۱. تأثیر اسانس مرزه خوزستانی بر میزان مواد واکنش دهنده با اسید تیو باربیتوریک (TBARS) در عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. (a–b) میانگین‌های فاقد حروف مشترک روی هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p<۰/۰۵$).



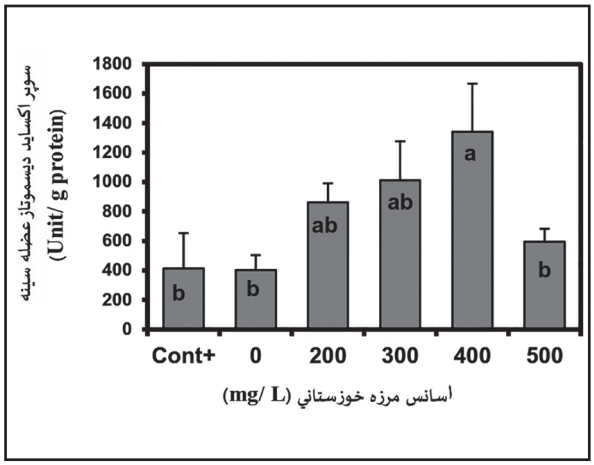
نمودار۲. تأثیر اسانس مرزه خوزستانی بر فعالیت کاتالاز در عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. (a–b) میانگین‌های فاقد حروف مشترک روی هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

$y=۳۹/۳۳x - ۷/۸۰۰, R^۲ = ۰/۹۲۹$



نمودار ۳. تأثیر اسانس مرزه خوزستانی بر فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. (a–b) میانگین‌های فاقد حروف مشترک روی هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

$y=۰/۶۰۲x^۲ - ۳/۲۹۲x + ۱۹/۲۴۲, R^۲ = ۰/۶۸۴, p = ۰/۰۳۰۰$



نمودار ۴. تأثیر اسانس مرزه خوزستانی (mg/L) بر فعالیت سوپر اکساید دیسموتاز در عضله سینه جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی. (a–b) میانگین‌های فاقد حروف مشترک روی هر ستون دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند ($p<۰/۰۵$).

$p = ۰/۰۴۱۳$

به اسیدهای چرب غیراشباع موجب پراکسیداسیون لیپیدها و به دنبال آن تخریب غشای سلول‌ها می‌شوند (۳۰). در شرایط آزمایشگاهی و همچنین در بدن حیوانات، پراکسیداسیون لیپیدها در حضور ترکیبات فعال اکسیژن به خصوص $O_۲^-$ و $H_۲O_۲$ به شدت افزایش می‌یابد. رادیکال‌های آزاد در شرایط طبیعی سلول، به سرعت توسط واکنش‌های مختلف خنثی می‌شوند (۹). رادیکال‌های آزاد حاصل از این واکنش‌ها خود به صورت زنجیره‌ای وارد واکنش با سایر مولکول‌های مهم از جمله ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌های موجود در گوشت می‌شوند. نتیجه این واکنش‌های زنجیره‌ای تغییر فزاینده ترکیب و به تبع آن تغییر بو، مزه و رنگ گوشت است (۲۹). برای مقابله با آسیب ناشی از تولید ترکیبات فعال اکسیژن، سلول‌ها ساز و کارهای دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. ساز و کارهای دفاع غیر آنزیمی شامل برداشتن و حذف مستقیم رادیکال‌های آزاد توسط ترکیباتی همچون ویتامین E، ویتامین C، و گلوتاتیون (۳۰)، و تعدادی از جذب کننده‌های آهن از جمله فریتین (۱۱) است. دفاع آنزیمی نیز با فعالیت آنزیم‌های مختلف از جمله سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز تحقق می‌یابد (۲۴،۲۷). کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم‌های آنتی اکسیدانی هستند که آب اکسیژنه را به آب تبدیل می‌کنند (۳۲). افزایش خطی فعالیت آنزیم کاتالاز برای تمام سطوح اسانس مرزه و افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز با مقدار ۴۰۰mg/L اسانس، نشان می‌دهد که کارواکرول به عنوان ترکیب فعال اسانس با مشارکت در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد در عضله سینه مرغ تحت تنش گرمایی، به حفظ سطوح بالاتر این آنزیم‌ها در بافت کمک نموده است.

سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) آنزیم آنتی اکسیدان دیگری است که آنیون سوپراکسید ($O_۲^-$) را تبدیل به آب اکسیژنه می‌کند تا در مرحله بعد توسط کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به آب تجزیه شود (۱۶). فعالیت این آنزیم در عضله سینه پرنده‌های تحت تیمار ۴۰۰mg اسانس مرزه در آب به

طور معنی‌داری بالاتر از پرنده‌های شـاهد بود. مطالعات گذشته نشان داده است که پایداری اکسیداتیو عضلات طیور در برابر عوامل فساد اکسیداتیو با تغییرات جیره‌ای به خصوص با استفاده از افزودنی‌های مناسب، افزایش می‌یابـد (۵). در تلاش برای افزایش پایداری و ثبات اکسـیداتیو بافت‌های مختلف بدن طیور، محققین از اسانس و یا عصاره گیاهان دارویی استفاده نموده اند. در این راستا، نشان داده شده است که افزودن ۱۵۰g/kg تیمول و کارواکرول به جیره مرغ موجب افزایش پایداری اکسیداتیو عضلات در زمان حیات پرنده و افزایش نگهداری گوشت پرنده پس از ذبح می‌شود (۲۰). در مطالعه Jang و همکاران در سال ۲۰۰۸، افزودن ۰/۳٪ از مخلوط عصاره سه گیاه پیچ امین الدوله، برگ توت و goldthread به نسبت ۴۵/۵: ۴۸/۵: ۳ به جیره مرغ گوشـتی، پایداری اکسیداتیو عضله سینه مرغ بهبود یافت. در مطالعه‌ای دیگر، تولید مالون دی آلدئید (شاخص پراکسیداسیون چربی) در عضله سـینه بوقلمون‌های تغذیه شده با سـطوح ۰/۵ و ۱٪ پودر برگ دهیدراته شده رزماری به طور معنی‌دار کاهش یافت (۴). همچنین، افزودن ۱۰۰mg/kg و ۲۰۰ اسـانس مرزنجـوش بـه جیره، پایداری اکسـیداتیو بافت‌های عضلانی خرگوش را افزایش داد (۳). تأثیر سطوح جیره‌ای تفاله خشک گوجه فرنگی به دلیل دارا بودن توکوفرول‌ها بر پایداری اکسیداتیو بافت‌های بدن بلدرچین نیز توسط Botsoglou و همکاران در سال ۲۰۰۴ مورد تأیید قرار گرفته است.

نتایج مطالعه حاضر با اغلب یافته‌های پژوهشـی فوق هم خوانی دارد. ترکیبات فنلی مختلف به خصوص تیمول و کارواکرول موجود در اسـانس گیاهـان دارویی، پایداری آنزیم‌های دخیـل در حذف رادیکال‌های فعال را افزایش داد که آنها نیز به نوبه خود موجب خنثی شدن پراکسید هیدرژن و تبدیل هیدروپراکسیدهای لیپیدها به مواد غیر سمی شدند. با وجود نسبت بـالای ترکیبـات فنلی مختلف به خصـوص کارواکرول در اسـانس مرزه خوزستانی وجود چنین خاصیتی برای اسانس این گیاه نیز قابل انتظار است. یافته‌های Lin و همکاران در سال ۲۰۰۳، Luna و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Ciftci و همکاران در سـال ۲۰۱۰ قابلیت آنتی اکسـیدانی کارواکرول و ایزومر آن یعنی تیمول را تأیید نموده‌اند. کاهش میزان TBARS در عضله سینه پرنده‌های تحت تیمارهای ۳۰۰mg/L تا ۵۰۰ اسانس مرزه نتیجه تأثیر این اسـانس بر مهار رادیکال‌های آزاد و به تبع آن کاهش پراکسیداسیون لیپیدها اسـت. در تفسیر ارتباط بین مواد مؤثره اسانس‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسـیدان بدن حیوانات، مشخص شده است که ترکیبات فعال اسـانس‌ها موجب افزایش پایداری این آنزیم‌ها می‌شـوند (۸،۲۰) در واقع ترکیبات فنولی بعلت داشـتن حلقه بنزن و رزنانس الکترون می‌توانند رادیکال‌هـای آزاد را بدام انداختـه و مانع از ادامه واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید رادیکال‌های آزاد دیگری شوند. علاوه بر این عدم مصرف آنزیم‌های آنتی اکسـیدان باعث بالا ماندن سطح فعالیت این آنزیم‌ها شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱).

در مجموع نتایج این مطالعه نشـان داد که در شـرایط تنش گرمایی، افزودن سطوح ۳۰۰mg/L تا ۵۰۰ اسانس مرزه خوزستانی به آب آشامیدنی موجب بهبود قابلیت آنتی اکسـیداتیو از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های انتی اکسـیدان و به تبع آن سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در عضله سینه مرغ گوشتی می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسـیله از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان به خاطر حمایت‌های مالی و از آقای دکتر علی صالح نیا، مدیریت شرکت دارو سازی خرمان، به خاطر تأمین اسانس مرزه خوزستانی تشکر می‌شود.

References

1. Alirezaei, M., Dezfoulian, O., Kheradmand, A., Neamati, S., Khonsari, A., Pirzadeh, A. (2012) Hepatoprotective effects of purified oleuropein from olive leaf extract against ethanol-induced damages in the rat. Iran J Vet Res. 13: 218-226.
2. Botsoglou, N., Papageorgiou, G., Nikolakakis, I., Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Dotas, V., Sinapis, F. (2004). Effect of dietary dried tomato pulp on oxidative stability of Japanese quail meat. J Agric Food Chem. 52: 2982-2988.
3. Botsoglou, N.A., Florou-Paneri, P., Christaki, E., Giannenas, I., Spais, A.B. (2004) Performance of rabbits and oxidative stability of muscle tissues as affected by dietary supplementation with oregano essential oil. Arch Anim Nutr. 58: 209-218.
4. Botsoglou, N.A., Govaris, A., Giannenas, I., Botsoglou, E., Papageorgiou, G. (2007) The incorporation of dehydrated rosemary leaves in the rations of turkeys and their impact on the oxidative stability of the produced raw and cooked meat. Int J Food Sci Nutr. 58: 312-320.
5. Bou, R., Codony, R., Tres, A., Decker, E.A., Guardiola, F. (2009) Dietary strategies to improve nutritional value, oxidative stability, and sensory properties of poultry products. Crit Rev Food Sci Nutr. 49: 800-822.
6. Ciftci, M., Simsek, U.G., Yuce, A., Yilmaz, O., Dalkilic, B. (2010) Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and

fatty acid compositions of serum and meat in broiler chicken. Acta Vet Berno. 79: 33-40.

7. Dong, X.F., Gao, W.W., Su, J.L., Tong, J.M., Zhang, Q. (2011) Effects of dietary polysavone (Alfalfa extract) and chlortetracycline supplementation on antioxidation and meat quality in broiler chickens. Br Poult Sci. 52: 302-309.
8. Fki, I., Bouaziz, M., Sahnoum, Z., Sayadi, S. (2005) Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of Chemlali olive cultivar in rats fed a cholesterol- rich diet. Bioorg Med Chem. 13: 5362-5370.
9. Garcia Y.J., Rodriguez-Malaver, A., Penaloza, N. (2005) Lipid peroxidation measurement by thiobarbituric acid assay in rat cerebellar slices. J Neurosci Meth. 144: 127-135.
10. Hadian, J., Mirjalili, M.H., Kanani, M.R., Salehnia, A., Ganjipoor, P. (2011) Phytochemical and morphological characterization of *Satureja khuzistanica* Jamzad populations from Iran. Chem Biodivers. 8: 902- 915.
11. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., Cross, C.E. (1992) Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? J Lab Clin Med. 119: 598–620.
12. Hirose, M., Takesada, Y., Tanaka, H., Tamano, S., Kato T., Shirai, T., (1997) Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model. Carcinogenesis. 19: 207–212.
13. Iseri S., Sener, G., Saglam, B., Ercan, F., Gedik, N., Yegen, B., (2008) Ghrelin alleviates biliary obstruction-induced chronic hepatic injury in rats. Regul Pept. 146: 73-79.
14. Ismail, I.B., Al- Busadah, K.A., El-Bahr, S.M., (2013) Oxidative stress biomarkers and biochemical profile in broilers chicken fed zinc bacitracin and ascorbic acid under hot climate. Am J Biochem Mol Biol. 3: 202-214.
15. Jang, A., Liu, X.D., Shin, M.H., Lee, B.D., Lee, S.K., Lee, J.H., Jo, C. (2008) Antioxidative potential of raw breast meat from broiler chicks fed a dietary medicinal herb extract mix. Poult Sci. 87: 2382-2389.
16. Kheradmand A., Alirezaei, M., Birjandi, M. (2010) Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. Regul Pept. 162: 84-89.
17. Khosravinia, H., Ghasemi, S., Rafiei Alavi, E. (2013) Effect of savory (*Satureja khuzistanica*) essential oils on performance, liver and kidney functions in broiler chicks. J Anim Feed Sci. 22: 50-55.
18. Klasing, K.C. (1998) Comparative Avian Nutrition. (1st ed.) CAB International, New York, USA.
19. Lin, C.C., Wu, S.J., Chang, C.H., Nu, L.T. (2003) Antioxidant activity of Cinnamomum cassis. Phytothera Res. 17: 726- 730.
20. Luna, A., Lábaque, M.C., Zygadlo, G.A., Marin, R.M. (2010) Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. Poult Sci. 89: 366-370.
21. Park, S.J., Yoo, S.O. (1999) Effects of supplementation of Chinese medicine refuse on performance and physiology in broiler chicken. Korean J Poult Sci. 26: 195- 201.
22. Praveen, K.V., Kuttan, G., Kuttan, R. (2002) Protective effects of Rasayanas on cyclophosphamide and radiation induced damage. J Altern Complement Med. 8: 787–796.
23. Rababah, T., Hettiarachchy, N.S., Horax, R., Cho, M.J., Davis, B., Dickson, J. (2006) Thiobarbituric acid reactive substances and volatile compounds in chicken breast meat infused with plant extracts and subjected to electron beam irradiation. Poult Sci. 85: 1107- 1113.
24. Ramnath, V., Rekha, P.S., Sujatha, K.S. (2008) Amelioration of heat stress induced disturbances of antioxidant defense system in chicken by Brahma Rasayana. Evid Based Complement Altern Med. 5: 77–84.
25. Sahin, K., Sahin, N., Onderci, M., Yaralıoglu, S., Kucuk, O. (2001) Protective role of supplemental vitamin E on lipid peroxidation, vitamins E, A and some mineral concentrations of broilers reared under heat stress. Vet Med Czech. 46: 140–144.

26. Sehirli O., Sener, E., Sener, G., Cetinel, S., Erzik, C., Yegen, B.C. (2008). Ghrelin improves burn-induced multiple organ injury by depressing neutrophil infiltration and the release of pro-inflammatory cytokines. Peptides. 29: 1231-1240.
27. Simitzis, P.E., Deligeorgis, S.G., Bizelis, J.A., Dardamani, A., Theodosiou, I., Fegeros, K. (2008) Effect of dietary oregano oil supplementation on lamb meat characteristics. Meat Sci. 79: 217- 223.
28. Singh, R., Pathak, D.N. (1990) Lipid peroxidation and glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase, catalase and glucose-6-dehydrogenase activities in FeCl3-induced epileptogenic foci in the brain. Epilepsia. 31: 15–36.
29. Stark G.J. (2005) Functional consequences of oxidative membrane damage. J Memb Biol. 205: 1-16.
30. Swatland, H.J. (2008) How pH causes paleness or darkness in chicken breast meat. Meat Sci. 80: 396-400.
31. Turner T.T., Lysiak, J.J. (2008) Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. J Androl. 29: 488-498.
32. Wheeler G.E. (1994) Use of a herbal supplement to reduce the effects of stress in intensively housed chickens. Indian J Indigenous Med. 11: 51–60.
33. Yu, B.P. (1994) Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev. 74: 139–162.

Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on antioxidative potential and postmortem pH of breast muscle in heat stressed broiler chicken

Khosravinia H.[1], Alirezaei M.[2], Ghasemi, S.[3], Neamati, S.[4]

[1]*Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad-Iran*
[2]*Division of biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad-Iran*
[3]*Lorestan Medical Plant Lab, Khorraman, Khorramabad-Iran*
[4]*Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad-Iran*
(Received 12 January 2015, Accepted 13 April 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Inclusion of antioxidant sources in feed or water reduces the detrimental effects of free radicals and increases the antioxidative potential and stability of lipids in heat stressed broiler chicken. **OBJECTIVES:** This study was conducted to examine the effect of *Satureja khuzistanica* essential oils (SkEO) on early postmortem and ultimate pH as well as antioxidative potential of breast muscle in broiler chicken. **METHODS:** A total number of 720,1-d-old Arian broiler chicks were used in a 42-d trial to examine the effects of six experimental treatments consisting inclusion of 0 (control-), 200, 300, 400, 500 mg/L SkEO and 500 mg/L Polysorbate-80 (control+) in drinking water in six replicates of 20 birds each in a completely randomized blocks design. Catalase enzyme activity (by kinetic method) and glutathione peroxidase as well as superoxide dismutase activities (via Randox® kits) were measured spectrophotometerically. Lipid peroxidation also was measured in breast muscle by a chemical method with thiobarbituric acid. **RESULTS:** The breast percentage and early as well as ultimate pH of breast muscle was not differ for the birds received SkEO-treated water compared to the control birds ($p>0.05$). Addition of SkEO in drinking water at doses greater than 200 mg/L significantly decreased the thiobarbituric acid reactive substances values in breast muscle of the birds in comparison with the control birds ($p<0.05$). Catalase activity was significantly higher in breast muscle of the SkEO-treated groups than the control groups ($p<0.05$). Activity of glutathione peroxidase was significantly greater in the birds given 400 and 500 mg/L SkEO. Addition of SkEO into water up to 400 mg/L increased superoxide dismutase activity in breast muscle of the treated birds compared to the control birds. **CONCLUSIONS:** It was concluded that supplementation of drinking water with SkEO elevates the antioxidative potential and increases the lipid stability of breast muscle in heat stressed male broiler chicken.

Keyword: breast muscle, heat stress, phytogenic antioxidants, *Satureja khuzistanica*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Constituents in *Satureja khuzistanica* essential oils.

Table 2. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on breast weight (g), early (pH_{15}) and ultimate (pH_u) pH of breast muscle in broiler chicken at 42 d of age.

Graph 1. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on TBARS concentration in breast muscle at 42 d of age.

Graph 2. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on catalase activity in breast muscle at 42 d of age.

Graph 3. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on glutathione peroxidase in breast muscle 42 d of age.

Graph 4. Effect of *Satureja khuzistanica* essential oils on superoxide dismutase in breast muscle 42 d of age.

***Corresponding author's email: Khosravi_fafa@yahoo.com, Tel: 066-33400012, Fax: 066-33400289**