



Comparison of the Protective Effect of Clove Essential Oil and Vitamin C on the Toxicity of Lead Accumulation

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Nazarian Samani Z.¹ *DVM*,
Habibian Dehkordi S.* *PhD*,
Fallah A.² *PhD*,
Alizadeh A.³ *PhD*,
Bahadoran Sh.⁴ *PhD*

How to cite this article

Nazarian Samani Z, Habibian Dehkordi S, Fallah A, Alizadeh A, Bahadoran Sh. Comparison of the Protective Effect of Clove Essential Oil and Vitamin C on the Toxicity of Lead Accumulation. *Pathobiology Research*. 2018;21(1):1-6.

*Pharmacology Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
¹Basic Science Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
²Food Hygiene Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
³Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
⁴Poultry Diseases Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Correspondence

Address: Shahrekord University, Rahebar Boulevard, Shahrekord, Iran.
Postal Code: 8818634141
Phone: +98 (38) 32324404
Fax: +98 (38) 32324427
habibian_dehkordi@yahoo.com

Article History

Received: October 25, 2017
Accepted: January 9, 2018
ePublished: April 10, 2018

ABSTRACT

Aims Environmental pollution and exposure to toxic metals such as lead can induce to chronic and malignant diseases and has considerable complications including carcinogenicity, immunotoxicity, and neurotoxicity. The aim of this study was to compare the protective effect of clove essential oil and vitamin C on the toxicity of lead accumulation in quail eggs.

Materials & Methods The current clinical trial study was performed on 360 quail chicks in a poultry farm of the Veterinary Medicine faculty of Shahrekord University in 2016. Quails were randomly divided into 6 groups with different diets. After intervention, at the age of 42 days, 5 eggs were gathered from each group. An Atomic Absorption Spectroscopy (AAS) was used to determine the tissue accumulation of lead in quail eggs. To measure the amount of lipid oxidation, TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) test and Malondialdehyde (MDA) was measured. The data were analyzed using one-way analysis of variance and Tukey's post hoc test by GraphPad Prism 5 software.

Findings The mean of lead accumulation in quail eggs in the group receiving lead and clove essential oil was significantly lower than those receiving lead ($p < 0.05$). Also, the mean concentration of malondialdehyde in the lead intake group was significantly higher than that of the two groups receiving the lead plus the essential oil of clove or vitamin C ($p < 0.05$).

Conclusion The use of clove essential oil in quail diet has a more protective effect than vitamin C on the toxicity of lead accumulation in quail eggs.

Keywords Clove Essential Oil; Lead; Bioaccumulation; Lipid Peroxidation; Quail

CITATION LINKS

[1] Toxicology and biological monitoring of metals. In: General, applied and systematic toxicology [2] The heavy metal content in chicken eggs consumed in Van Lake Territory [3] Trace elements in home-produced eggs in Belgium: Levels and spatiotemporal distribution [4] Effects of lead and cadmium on brain endothelial cell survival, monolayer permeability, and crucial oxidative stress markers in an in vitro model of the blood-brain barrier [5] Developmental exposure to lead and late life abnormalities of nervous system [6] Low-level environmental lead exposure and intellectual impairment in children-the current concepts of risk assessment [7] Lead pollution - a risk factor for cardiovascular disease in Asian developing countries [8] Early mouse development [9] Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil [10] The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance [11] Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis [12] Distribution of trace elements in liver and muscle of Japanese quails [13] Toxicity of cadmium in Japanese quail: Evaluation of body weight, hepatic and renal function, and cellular immune response [14] Effect of irradiation on the quality of turkey ham during storage [15] Lead in New York City community garden chicken eggs: Influential factors and health implications [16] Effect of vitamin C and iron chelation on diesel exhaust particle and carbon black induced oxidative damage and cell adhesion molecule expression in human endothelial cells [17] The effect of vitamin C on lead poisoning [18] Antioxidant activity of clove oil - A powerful antioxidant source [19] The neuroprotective efficiency of the aqueous extract of clove (*Syzygium aromaticum*) in aluminum-induced neurotoxicity [20] Lead contamination of chicken eggs and tissues from a small farm flock [21] In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components [22] Clove: A champion spice [23] Biological effects of essential oils - a review [24] Oxidative stress and metal carcinogenesis [25] Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34 degrees C) [26] Influence of vitamin C supplementation on lead-induced histopathological alterations in male rats

مقایسه اثر محافظتی روغن فرار میخک و ویتامین C بر سمیت ناشی از تجمع سرب

زینب نظریان سامانی DVM

گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

سعید حبیبیان دهکردی PhD

گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

عزیزاله فلاح PhD

گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

اکرم عزیزاده PhD

مرکز تحقیقات سلولی-مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

شهاب بهادران PhD

گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

اهداف: آلودگی محیط زیست و مواجهه با فلزات سمی مانند سرب موجب بیماری‌های مزمن و بدخیم می‌شود و دارای عوارض قابل ملاحظه‌ای شامل سرطان‌زایی، ایمونوتوکسیسیته و مسمومیت عصبی است. هدف پژوهش حاضر، مقایسه اثر محافظتی روغن فرار میخک و ویتامین C بر سمیت ناشی از تجمع سرب در تخم بلدرچین بود.

مواد و روش‌ها: پژوهش کارآزمایی بالینی حاضر روی ۳۶۰ قطعه جوجه بلدرچین در سالن پرورش طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. بلدرچین‌ها به‌صورت تصادفی به ۶ گروه با جیره‌های غذایی مختلف تقسیم شدند. پس از انجام مداخله، در ۴۲ روزگی از هر گروه ۵ تخم بلدرچین جمع‌آوری شد. برای تعیین میزان تجمع بافتی سرب در تخم بلدرچین از دستگاه جذب اتمی استفاده شد و سنجش میزان پراکسیداسیون چربی‌ها با آزمایش ترکیبات واکنشگر تیوباریتوریک اسید (TBARS) و اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید صورت گرفت. داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism 5 و از طریق آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین تجمع سرب در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب و اسانس میخک به طور معنی‌داری نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب کمتر بود ($P < 0.05$)، همچنین میانگین غلظت مالون‌دی‌آلدئید در گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو گروه دریافت‌کننده سرب به‌همراه اسانس میخک یا ویتامین C بود ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: استفاده از اسانس میخک در جیره بلدرچین، اثر محافظتی بیشتری نسبت به ویتامین C، بر سمیت ناشی از تجمع سرب در تخم بلدرچین دارد.

کلیدواژه‌ها: روغن فرار میخک، سرب، تجمع زیستی، پراکسیداسیون لیپیدی، بلدرچین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۹

نویسنده مسئول: habibian_dehkordi@yahoo.com

مقدمه

وجود مقادیر زیاد فلزات سنگین در زندگی انسان می‌تواند سمی باشد و باعث بروز نقایص مادرزادی، آسیب‌رساندن به اندام‌ها و ارگان‌های مختلف بدن و بیماری‌های مزمن و بدخیم شود. سرب، کادمیوم و جیوه همراه با آرسنیک از عمومی‌ترین عناصری هستند که به‌طور وسیعی در محیط پخش می‌شوند و این فلزات جزء فلزات مشکل‌ساز در صنایع غذایی به شمار می‌آیند. هر یک از این فلزات درجه سمیت متفاوتی دارند و علی‌رغم تمهیدات صورت‌گرفته هنوز هم وجود این فلزات، مصرف‌کنندگان را به خطر می‌اندازد [1]. راه‌های اصلی قرارگرفتن در معرض فلزات سنگین، هوای آلوده، آب، خاک و مواد غذایی از جمله تخم مرغ است. تخم مرغ، ماده غذایی رایج و منبع مهم پروتئین و سرشار از مواد مختلف است [2] و طیور از طریق خوراکی با فلزات سنگین مواجه می‌شوند. حداکثر غلظت مجاز فلزات سنگین در تخم مرغ ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است [3].

سرب در ابتدا به برخی سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی-عروقی، اختلالات سیستم عصبی مرکزی و فشار خون دخیل است. این فلز به‌عنوان یک عامل نورووتوکسیک و عامل اختلالات رفتاری و عملکرد غیرطبیعی مغز گزارش شده است [4]. مقدار غلظت ۰.۰۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر یا بیشتر سرب در خون سمی است و می‌تواند باعث ایجاد مشکلات فراوانی در بدن شود [5-7]. یکی از مناسب‌ترین روش‌های اندازه‌گیری استرس‌اکسیداتیو از جمله استرس‌اکسیداتیو القایی ناشی از فلزات سنگین، استفاده از آزمایش ترکیبات واکنشگر تیوباریتوریک اسید (TBARS) است. این آزمایش میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و ترکیبات وابسته به آن را اندازه‌گیری می‌کند. برخی ترکیبات طبیعی مثل ویتامین C دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند و توانایی جذب و به‌دام‌اندازی برخی عناصر سمی و کاهش استرس‌اکسیداتیو را دارند [8].

جوانه گل درخت میخک با نام علمی *Syzygium aromaticum* (سبزیگیوم آروماتیکوم) از نظر ترکیبات شیمیایی دارای اسانس قابل ملاحظه‌ای است. به‌علاوه میخک دارای تانن، فلاونوئیدها، اسیدفنولیک، تری‌ترین‌ها، مشتقات استوفنونی، گلیکوزیدها، آلدئیدها، کتون‌ها، فیتواسترول‌ها و الکل‌ها است [8]. اصلی‌ترین ترکیب اسانس میخک، اوژنول با نام شیمیایی ۴-آلیل-۲-متوکسی‌فنل و فرمول $C_{10}H_{12}O_2$ بوده است که یک ترکیب فنلی غیرسرطان‌زا و غیرموتاژن است و ۷۵-۸۸٪ وزن کل اسانس میخک را تشکیل می‌دهد [9]. اضافه‌کردن این ماده تا میزان ۱۵۰۰ ppm به‌عنوان یک ماده افزودنی به انواع غذاها، توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده بی‌خطر محسوب می‌شود و مصرف روزانه ۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن برای انسان بدون خطر ذکر شده است [10]. مطالعات فارماکولوژی مدرن نشان داده است که میخک طیف وسیعی از ویژگی‌های بیولوژیک مثل اثرات آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، آنتی‌باکتریال، ضدسرطان، ضدانعقاد، ضدانگل، ضددیابت و اثر محافظتی بر عملکرد کبد و سیستم ایمنی بدن دارد [11].

بلدرچین ژاپنی (*Coturnix coturnix japonica*) نیز همانند مرغ، یک گونه اقتصادی اهلی جالب برای تولید تجاری تخم و گوشت است. بلدرچین اغلب برای بررسی فرآیندهای فیزیولوژیک در پرندگان استفاده می‌شود و همچنین یک مدل تجربی مناسب برای مشاهده رابطه بین عناصر ضروری و زنبوبوتیک‌ها در داخل بدن است [12]. این گونه توسط سازمان حفاظت از محیط زیست (EPA) به‌عنوان یک مدل مناسب برای ارزیابی تأثیرات آلوده‌کننده‌های محیطی تعیین شده است [13]. با توجه به احتمال تجمع سرب و ایجاد آسیب‌های اکسیداتیو در تخم بلدرچین طی مواجهه مزمن با این فلز، به بررسی اثر اسانس میخک به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی و ممانعت‌کننده از تجمع بافتی سرب در بلدرچین و مقایسه آن با ویتامین C پرداخته شد. بنابراین هدف پژوهش حاضر، مقایسه اثر محافظتی روغن فرار میخک و ویتامین C بر سمیت ناشی از تجمع سرب در تخم بلدرچین بود.

مواد و روش‌ها

پژوهش کارآزمایی بالینی حاضر روی ۳۶۰ قطعه جوجه بلدرچین ژاپنی در سالن پرورش طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد به ابعاد ۱۷×۴×۳/۵ متر در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. این مطالعه طبق مصوبه شورای پژوهشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

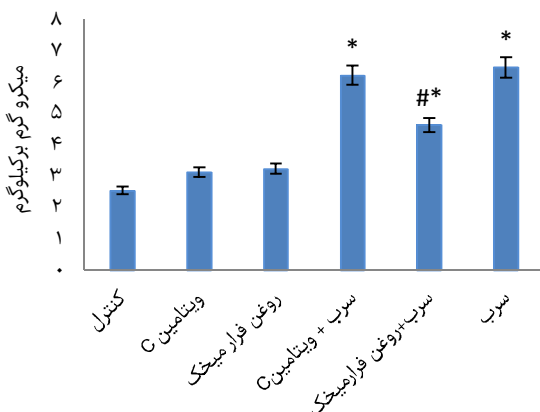
سنجش میزان پراکسیداسیون چربی‌های غشایی: برای سنجش پراکسیداسیون چربی‌های غشایی، میزان مالون‌دی‌آلدئید با انجام آزمایش TBARS اندازه‌گیری شد. در این روش ۵ گرم نمونه با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر در هموژنایزر هموژنیزه شد و مقدار یک میلی‌لیتر از این مخلوط با ۲ میلی‌لیتر مخلوط تری‌کلرواستیک‌اسید (۱۵٪ وزنی-حجمی) و تیوباریتوریک‌اسید (۰/۰۲ مولار) که دارای دو حجم تری‌کلرواستیک‌اسید و یک حجم تیوباریتوریک‌اسید بود به خوبی مخلوط شد. پس از آن به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۹۰-۱۰۰°C قرار داده شد و سپس با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. جذب نوری محلول رویی در طول موج ۵۳۲ نانومتر توسط اسپکتوفتومتر و بر حسب واحد میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد. برای صفر کردن دستگاه، نمونه شاهد که به جای نمونه مورد آزمایش دارای یک میلی‌لیتر آب مقطر بود، مورد استفاده قرار گرفت [14]. با استفاده از ضریب خاموشی مولی (molar extinction coefficient)، مالون‌دی‌آلدئید تعیین مقدار شد. محاسبه میزان مالون‌دی‌آلدئید از طریق فرمول زیر براساس میلی‌گرم در هر کیلوگرم مخلوط زرده و سفیده تخم بلدرچین صورت گرفت:

$$\text{میزان مالون‌دی‌آلدئید (کیلوگرم/میلی‌گرم)} = \frac{1000 \times 4 \times 72}{10^5 \times 1.56} \times \text{خوانده شده توسط اسپکتوفتومتر}$$

تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار GraphPad Prism 5، از طریق آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه داده‌ها و آزمون تعقیبی توکی صورت گرفت.

یافته‌ها

ترکیبات موجود در اسانس میخک استفاده شده شامل اوژنول (۷۷/۶۶٪)، ایزواوژنول (۰/۶۳٪)، بتاکاریوفیلن (۹/۵۴٪)، آلفاهومولن (۱/۳۳٪)، دلتاکادیلن (۰/۲٪)، اوژنول استات (۷/۰۷٪) و کاریوفیلن‌اکسید (۰/۲۸٪) بود.



نمودار ۱) میزان تجمع زیستی سرب در تخم بلدرچین‌های گروه‌های مختلف وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ # وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$

میزان تجمع سرب در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$), در

به شماره ۱۷۰۲/۱۰۲ با رعایت تمام موازین اخلاق پزشکی صورت گرفت. ۳۶۰ قطعه جوجه بلدرچین یک‌روزه خریداری شد و تا ۷ روزگی با جیره پایه تغذیه شدند و پس از وزن‌کشی، به‌صورت تصادفی در ۶ گروه متشکل از ۲۰ قطعه با ۳ تکرار و با میانگین وزن تقریباً یکسان تقسیم شدند. بدین صورت که گروه ۱ دریافت‌کننده جیره پایه در کل دوره آزمایش به‌عنوان کنترل منفی، گروه ۲ دریافت‌کننده جیره پایه و ۱۰۰ppm استات سرب در آب آشامیدنی (از ۷ تا ۴۲ روزگی) به‌عنوان کنترل مثبت سرب، گروه ۳ دریافت‌کننده جیره پایه ۵۰۰ppm ویتامین C در جیره به‌عنوان کنترل مثبت ویتامین C، گروه ۴ دریافت‌کننده جیره پایه و ۴۵۰ میلی‌گرم اسانس میخک به ازای هر کیلوگرم جیره به‌عنوان کنترل مثبت برای اسانس میخک، گروه ۵ دریافت‌کننده جیره پایه و ۴۵۰ میلی‌گرم اسانس میخک به ازای هر کیلوگرم جیره و ۱۰۰ppm استات سرب در آب آشامیدنی و گروه ۶ دریافت‌کننده جیره پایه و ۵۰۰ppm ویتامین C در جیره و ۱۰۰ppm استات سرب در آب آشامیدنی بود. در ۴۲ روزگی از هر گروه ۵ تخم جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشگاه شهرکرد منتقل شد. تخم‌های جمع‌آوری شده هر گروه پس از مخلوط و هموژن کردن سفیده و زرده با همزن برقی برای انجام آزمایش‌های لازم آماده شدند.

اسانس‌گیری: اسانس‌گیری از پودر گل میخک به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت صورت گرفت. به‌منظور شناسایی ترکیبات فرار در اسانس از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) - طیف‌سنج جرمی (MS) 5975C (Agilent؛ ایالات متحده) استفاده شد و انرژی یونیزاسیون در طیف‌سنج جرمی ۷۰ الکترون ولت انتخاب شد. طیف جرمی شامل نسبت جرم به بار ۵۵۰-۵۰ بود. گاز هلیوم با سرعت ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه جریان داشت. دمای اولیه ستون ۶۰°C و دمای نهایی ستون ۲۸۰°C بود. افزایش دما تا ۴°C در دقیقه برنامه‌ریزی شد. نسبت جداسازی به‌صورت ۱ به ۱۰۰ تنظیم شد. دمای تزریق‌کننده ۳۰۰°C بوده و خلوص گاز هلیوم ۹۹/۹۹٪ بود. برای تزریق نمونه‌ها از میزان ۰/۱ میکرولیتر اسانس با استفاده از سرنگ همپلتون استفاده شد. شاخص‌های بازدارندگی برای تمام اجزا با استفاده از یک سری هومولوگ از آن-آلکان‌ها (C₅-C₂₅) که در شرایط مشابه نمونه‌ها تزریق شدند محاسبه شد. شناسایی اجزای اسانس براساس مقایسه دفعات بازدارندگی آنها با دفعات بازدارندگی استانداردهای معتبر نیز با مقایسه الگوهای تجزیه‌ای طیفی جرم آنها انجام شد.

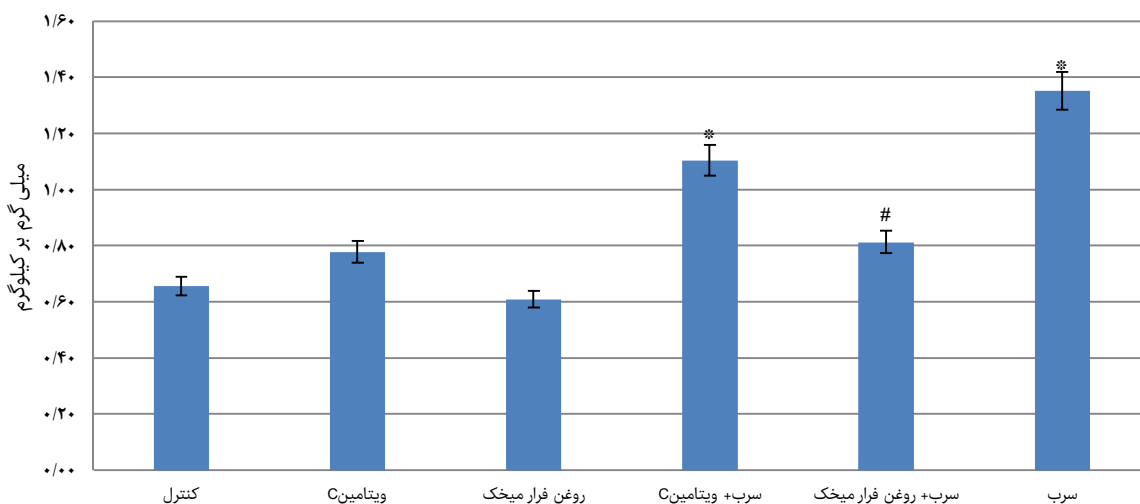
سنجش تجمع سرب با روش جذب اتمی: برای سنجش تجمع بافتی سرب ابتدا یک‌گرم از مخلوط سفیده و زرده تخم بلدرچین داخل یک بشر قرار گرفت. ۵ میلی‌لیتر اسیدنیتریک ۶۵٪ به بشر اضافه شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۳۷٪ و ۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰٪ به مجموعه قبلی افزوده شد. پس از هم‌زدن محتویات بشر، ظرف حاوی نمونه روی صفحه داغ با درجه حرارت ۴۰-۵۰°C قرار گرفت. در فواصل زمانی گوناگون با بررسی محتویات داخل بشر، کفایت هضم مورد بررسی قرار گرفت. این کار تا جایی ادامه یافت که تمام نمونه بافت در محلول هضم، حل شد. سپس محتویات بشر با اضافه‌نمودن آب دیونیزه به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده و توسط صافی پالایش و در لوله فالتکون تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد. این نمونه پالایش‌شده با دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی تحلیل شد.

غشایی در گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی و گروه دریافت‌کننده سرب همراه با ویتامین C افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($p < 0.05$).

میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با روغن فرار میخک در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0.05$) که این میزان در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با اسانس گل میخک نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب همراه با ویتامین C کاهش معنی‌داری را نشان داد. میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه‌های دریافت‌کننده روغن فرار میخک و ویتامین C به‌تنهایی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$; نمودار ۲).

حالی که این میزان در گروه دریافت‌کننده سرب و روغن فرار میخک نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). در مقایسه گروه دریافت‌کننده سرب و روغن فرار میخک، نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب و ویتامین C در میزان تجمع سرب، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). در حالی که میزان تجمع سرب در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب و روغن فرار میخک نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). از طرفی این میزان در گروه‌های دریافت‌کننده روغن فرار میخک و ویتامین C به‌تنهایی، نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0.05$; نمودار ۱).

میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی‌های



نمودار ۲) میزان مالون‌دی‌آلدئید در تخم بلدرچین‌های گروه‌های مختلف

*: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ را نشان می‌دهد.
#: وجود اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی در سطح معنی‌داری $p < 0.05$ را نشان می‌دهد.

میخک نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی و گروه دریافت‌کننده سرب همراه با ویتامین C شد. در حالی که یافته‌های کلینیکی حاصل از مطالعه‌ای نشان داده است که ویتامین C در کاهش سرب در بدن نقش دارد. همچنین نشان داده شده است که غلظت سرب موجود در کبد، کلیه و درشت‌نی با استفاده از ویتامین C کاهش می‌یابد [17]. نتایج نشان داد که کاهش تجمع سرب در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با ویتامین C در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی از نظر آماری معنی‌دار نبود. مغایرت در نتایج ممکن است به علت متفاوت بودن میزان دوز مصرفی یا احتمالاً متفاوت بودن توانایی جذب ویتامین C از دستگاه گوارش در حیوانات مختلف یا متفاوت بودن سرعت متابولیسم و دفع ویتامین C یا دلایل مختلف دیگری که به‌طور دقیق مشخص نیستند، باشد. طبق نتایج، روغن فرار میخک با غلظت ۴۵۰ppm نسبت به ویتامین C با غلظت ۵۰۰ppm توانایی بیشتری در جلوگیری از تجمع سرب در تخم بلدرچین دارد. این نتایج تایید کرد که گل میخک توان رسوب‌دهندگی بالایی برای فلزات دارد. در همین راستا در مطالعه‌ای گزارش کرده‌اند که گل میخک توان رسوب‌دهندگی بالایی برای یون‌های فلزی داشته و از این طریق می‌تواند به دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن کمک شایانی کند [18].

بحث

هدف پژوهش حاضر مقایسه اثر محافظتی روغن فرار میخک و ویتامین C بر سمیت ناشی از تجمع سرب در تخم بلدرچین بود. نتایج نشان داد که تجمع سرب در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب در مقایسه با گروه کنترل افزایش داشت. بنابراین می‌توان استنباط کرد که تخم بلدرچین یکی از مکان‌هایی است که فلزاتی چون سرب در آن تجمع می‌یابند. در همین راستا در مطالعه‌ای ارتباط مستقیم بین میزان سرب موجود در خاک با میزان سرب در تخم مرغ گزارش شده است [15]. در مطالعه دیگری غلظت سرب در تخم مرغ در محدوده ۴۷۷-۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است که در ۲۵٪ تا ۴۰٪ نمونه‌های تخم مرغ، این غلظت بالاتر از حداکثر غلظت مجاز (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بوده است [3].

مطالعات نشان داده است که برخی از مواد غذایی مانند ویتامین C دارای اثرات حفاظتی در برابر مسمومیت با سرب هستند [16]. در حقیقت ویتامین C میزان دسترسی به عناصر را تحت تاثیر قرار می‌دهد و بر متابولیسم سرب، جیوه و آهن تاثیر دارد [10]. در مطالعه حاضر روغن فرار میخک باعث کاهش معنی‌دار تجمع زیستی سرب در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با روغن گل

بالا تری در به دام اندازی فلزات سنگین نسبت به ویتامین C است و بنابراین در مناطقی که به دلیل آلودگی‌های زیست محیطی با فلزات سنگین با خطر تجمع این فلزات در بافت‌های خوراکی و انتقال آن به انسان مواجه هستند، می‌توان با استفاده از اسانس میخک مانع از تجمع این فلزات در بافت‌ها شد.

پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده به بررسی مکانیزم اثر این اسانس در ممانعت از تجمع سرب و کادمیوم در بافت‌های مختلف پرداخته شود، مکانیزم اثر اسانس میخک در برابر ضایعات اکسیداتیو فلز سرب مورد بررسی و پژوهش قرار گیرد، همچنین میزان موثر درمانی و غلظت سمی این اسانس تعیین شود.

نتیجه‌گیری

استفاده از اسانس میخک در جیره بلدرچین، اثر محافظتی بیشتری نسبت به ویتامین C، بر سمیت ناشی از تجمع سرب در تخم بلدرچین دارد.

تشکر و قدردانی: از دانشگاه شهرکرد که تحقیق حاضر با حمایت مالی این دانشگاه انجام شده است، تشکر و قدردانی می‌شود.

تأییدیه اخلاقی: این مطالعه طبق مصوبه شورای پژوهشی دانشکده دام پزشکی دانشگاه شهرکرد به شماره ۱۷۰۲/۱۰۲ با رعایت تمام موازین اخلاق پزشکی صورت گرفت.

تعارض منافع: موردی از سوی نویسندگان بیان نشده است.

سهم نویسندگان: زینب نظریان سامانی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه / پژوهشگر اصلی/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ سعید حبیبیان دهکردی (نویسنده دوم)، روش‌شناس/پژوهشگر اصلی/تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ عزیزاله فلاح (نویسنده سوم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی/تحلیلگر آماری (۲۰٪)؛ اکرم علیزاده (نویسنده چهارم)، پژوهشگر کمکی/نگارنده بحث (۱۰٪)؛ شهاب بهادران (نویسنده پنجم)، روش‌شناس/پژوهشگر کمکی (۱۰٪)

منابع مالی: این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهرکرد در قالب پایان‌نامه دانشجویی انجام شده است.

منابع

- 1- Nordberg M, Nordberg GF. Toxicology and biological monitoring of metals. In: General, applied and systematic toxicology. New York: John Wiley & Sons; 2009.
- 2- Demirulus H. The heavy metal content in chicken eggs consumed in Van Lake Territory. *Ekoloji*. 2013;22(86):19-25.
- 3- Waegeneers N, Hoenig M, Goeyens L, De Temmerman L. Trace elements in home-produced eggs in Belgium: Levels and spatiotemporal distribution. *Sci Total Environ*. 2009;407(15):4397-402.
- 4- Tobwala S, Wang HJ, Warren Carey J, Banks WA, Ercal N. Effects of lead and cadmium on brain endothelial cell survival, monolayer permeability, and crucial oxidative stress markers in an in vitro model of the blood-brain barrier. *Toxics*. 2014;2(2):258-75.
- 5- Basha R, Reddy GR. Developmental exposure to lead and late life abnormalities of nervous system. *Indian J Exp Biol*. 2010;48(7):636-641.
- 6- Jakubowski M. Low-level environmental lead exposure and intellectual impairment in children—the current concepts of risk assessment. *Int J Occup Med*

همچنین مطالعه‌ای نشان داده است که گل میخک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مانع از تجمع کلراید آلومینیوم در مغز موش‌های صحرایی می‌شود [19].

در تحقیق حاضر میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی برای استرس اکسیداتیو در تخم بلدرچین اندازه‌گیری شد [20]. نتایج نشان داد که میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرفی اسانس میخک باعث کاهش معنی‌دار میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشایی در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با روغن فرار میخک نسبت به گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی شد، این در حالی است که نسبت میزان پراکسیداسیون لیپیدی در تخم بلدرچین در گروه دریافت‌کننده سرب همراه با ویتامین C در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سرب به‌تنهایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. هم‌راستا با مطالعه حاضر در مطالعه‌ای، با اضافه کردن اسانس گل میخک به زرده تخم مرغ و اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید در زمان‌های مختلف نشان داده‌اند که گل میخک دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی خوبی است [21]. آزمایش ظرفیت جذب اکسیژن رادیکالی (ORAC) روشی پیشرفته است که برای مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی به کار می‌رود. میزان ظرفیت جذب اکسیژن رادیکالی برای میخک بالای ۱۰ میلیون است. یک قطره اسانس میخک ۴۰۰ برابر از آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر بلوبری (blue berries) و ولف‌بری (wolf berries) قوی‌تر است. همچنین میخک دارای بالاترین ظرفیت برای دادن هیدروژن و کاهش اکسیداسیون لیپیدی است. روغن فرار میخک دارای اثر مهارکنندگی رادیکال‌های هیدروکسیل نیز هست [22]. همچنین ارزیابی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسانس میخک در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که توانایی آن در پاکسازی رادیکال‌های آزادی قابل مقایسه و حتی در پاره‌ای از موارد بیش از ترکیبات آنتی‌اکسیدان استاندارد همچون آلفاتوکوفرول و ترولوکس بوده است [18, 23, 24].

مطالعات نشان داده است که ویتامین‌های C و E اثر کاهشی روی میزان پراکسیداسیون لیپیدی و فلزات سنگین سرم بلدرچین دارند [25]. ویتامین C از طریق کاهش توانایی سرب در واکنش با بیومولکول‌های بحرانی، کاهش میزان جذب روده‌ای سرب و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی برای مهار پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافته توسط سرب، بدن را در برابر مواجهه با سرب محافظت می‌کند [26].

با توجه به مطالعه حاضر و مطالعات انجام شده می‌توان چنین استنباط نمود که اسانس میخک و ویتامین C هر دو دارای خواص آنتی‌اکسیدانی هستند، ولی با توجه به نتایج به‌دست‌آمده به نظر می‌رسد که اسانس میخک ممکن است با مکانیزمی متفاوت از اثر آنتی‌اکسیدانی توانسته است این کاهش را در میزان تجمع زیستی سرب ایجاد کند. مطالعه حاضر بر این موضوع دلالت داشت که استفاده از اسانس میخک در جیره بلدرچین ژاپنی، موثرتر از ویتامین C است. آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر اسانس میخک در جیره بلدرچین باعث کاهش تجمع زیستی سرب و میزان مالون‌دی‌آلدئید در تخم آن می‌شود. در واقع این اسانس با کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی غشایی سبب افزایش مقاومت آنتی‌اکسیدانی تخم بلدرچین می‌شود. اسانس میخک دارای توان

- induced oxidative damage and cell adhesion molecule expression in human endothelial cells. *Toxicol Lett.* 2011;203(3):181-9.
- 17- Holmes HN, Campbell K, Amberg EJ. The effect of vitamin C on lead poisoning. *J Lab Clin Med.* 1939;24:1119-27.
- 18- Gülçin İ, Elmastaş M, Aboul-Enein HY. Antioxidant activity of clove oil -A powerful antioxidant source. *Arab J Chem.* 2012;5(4):489-99.
- 19- Kassab RB, Bauomy AA. The neuroprotective efficiency of the aqueous extract of clove (*Syzygium aromaticum*) in aluminium-induced neurotoxicity. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014;6(5):503-8.
- 20- Trampel DW, Imerman PM, Carson TL, Kinker JA, Ensley SM. Lead contamination of chicken eggs and tissues from a small farm flock. *J Vet Diagn Invest.* 2003;15(5):418-22.
- 21- Dorman HJ, Figueiredo AC, Barroso JG, Deans SG. In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavour Fragr J.* 2000;15(1):12-6.
- 22- Milind P, Deepa K. Clove: A champion spice. *Int J Res Ayurveda Pharm.* 2011;2(1):47-54.
- 23- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils -a review. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(2):446-75.
- 24- Lee JC, Son YO, Pratheeshkumar P, Shi X. Oxidative stress and metal carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 2012;53(4):742-57.
- 25- Sahin K, Kucuk O, Sahin N, Sari M. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation status, serum hormone, metabolite, and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34 degrees C). *Int J Vitam Nutr Res.* 2002;72(2):91-100.
- 26- El-Neweshy MS, El-Sayed YS. Influence of vitamin C supplementation on lead-induced histopathological alterations in male rats. *Exp Toxicol Pathol.* 2011;63(3):221-7.
- Environ Health.* 2011;24(1):1-7.
- 7- Iqbal MP. Lead pollution - a risk factor for cardiovascular disease in Asian developing countries. *Pak J Pharm Sci.* 2012;25(1):289-94.
- 8- Kispert A, Gossler A. Early mouse development. In: Hans H, editor. *The laboratory mouse.* Oxford, UK: Elsevier Academic Press; 2004. pp. 175-81.
- 9- Jirovetz L, Buchbauer G, Stoilova I, Stoyanova A, Krastanov A, Schmidt E. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *J Agric Food Chem.* 2006;23(17):6303-7.
- 10- Anderson WG, McKinley RS, Colavecchia M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *N Am J Fish Manag.* 1997;17(2):301-7.
- 11- Abdel Wahhab M, Aly S. Antioxidant property of *Nigella sativa* (black cumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *J Appl Toxicol.* 2005;25(3):218-23.
- 12- Skalicka M, Korenekova B, Nad P. Distribution of trace elements in liver and muscle of Japanese quails. *Slovak J Anim Sci.* 2008;41(4):187-9.
- 13- Sant'Ana MG, Moraes R, Bernardi MM. Toxicity of cadmium in Japanese quail: Evaluation of body weight, hepatic and renal function, and cellular immune response. *Environ Res.* 2005;99(2):273-7.
- 14- Zhu MJ, Lee EJ, Mendonca A, Ahn DU. Effect of irradiation on the quality of turkey ham during storage. *Meat science.* 2004;66(1):63-8.
- 15- Spliethoff HM, Mitchell RG, Ribaud LN, Taylor O, Shayler HA, Greene V, et al. Lead in New York City community garden chicken eggs: Influential factors and health implications. *Environ Geochem Health.* 2014;36(4):633-49.
- 16- Frikke-Schmidt H, Roursgaard M, Lykkesfeldt J, Loft S, Nojgaard JK, Moller P. Effect of vitamin C and iron chelation on diesel exhaust particle and carbon black