

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



A ROZMARING- ÉS FOKHAGYMAOLAJ HATÁSA A BROJLERCSIRKE GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE

Ancsin Zsolt, Erdélyi Márta, Mézes Miklós

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék
2103 Gödöllő Páter K. u 1.
ancsin@gmail.com

Összefoglalás

A korábban széleskörűen alkalmazott hozamfokozó antibiotikumok, 2006-os betiltását követően szükségessé vált az új, alternatív hozamfokozók kutatása. A bemutatott kísérlet célja két, a humán gyógyászatban már régóta használt gyógy-ill. fűszernövény, a rozmaring és a fokhagyma esszenciális olajának brojlercsirke glutation redox rendszerére gyakorolt hatásának vizsgálata volt. A kísérletbe Hubbard brojlercsirkéket állítottunk be (n=200). A kontroll csoport kereskedelmi intenzív brojler abrakkeveréket kapott, míg a kísérleti csoportokban ehhez kevertük a fokhagyma-(0,15%FO) vagy rozmaringolajat (0,025% RO) ill. a kettő keverékét (0,15%FO+0,025%RO). A kísérlet végén (6 hetes korban) csoportonként 10 állatból vett vér és máj mintákban meghatároztuk a glutation redox rendszer egyes mutatóit (tiobarbitursav reagens anyagok, a redukált glutation koncentrációját, és a glutation-peroxidáz aktivitást). A vérplazmában és a vörösvérsejt hemolizátumban nem találtunk jelentős változásokat. A májban azonban a fokhagyma-ill. rozmaringolaj kedvező hatást gyakorolt a glutation redox rendszerre. A két olaj kombinált használata ugyanakkor kifejezetten kedvezőtlen hatással volt az antioxidáns paraméterekre. A glutation redox rendszerre gyakorolt kedvező hatása miatt mindkét olaj – önmagában alkalmazva – feltehetően eredménnyel használható a fiziológiás körülmények között is lejátszódó oxidatív folyamatok leküzdésében.

Kulcsszavak: rozmaringolaj, fokhagymaolaj, esszenciális olaj, lipid-peroxidáció, glutation redox rendszer

Effects of rosemary and garlic essential oils on glutathione redox system of broiler chicken

Abstract

With the prohibition of formerly common antibiotic growth promoters in 2006, it has become necessary to search for alternative feed additives to replace them. The aim of our study was to examine the effect of rosemary and garlic essential oils on the glutathione redox system of broiler chicken. Hubbard broiler chickens (n=200) were used in the experiment. The control group was fed with commercial intensive broiler feed, while garlic oil (0.15%FO), rosemary oil (0.025% RO) or the combination of those two oils (0.15%FO+0.025%RO) were added to the feed of the other groups. In the end of the growing period (6 weeks of age) blood and liver samples of 10 animals were taken from each group to determine some parameters of the glutathione redox system (like thiobarbituric acid reactive substances, reduced glutathione concentration, glutathione peroxidase activity). There were no significant changes in the blood plasma and in red blood-cell haemolysate samples, either. However, single garlic or rosemary oil supplementation had beneficial effects on the glutathione redox system in liver samples. At the same time, the combination of the two oils had severe adverse impact to the studied parameters. Due to their beneficial effects on the glutathione redox system, both essential oils – used solely – supposedly can be used to reduce the effects of oxidative processes in physiological conditions.

Keywords: rosemary oil, garlic oil, essential oil, lipid peroxidation, glutathione redox system



Irodalmi áttekintés

A múlt század közepétől az intenzív állattenyésztés kialakulása szükségessé tette az antibiotikumok hozamfokozóként történő alkalmazását. Használatukkal számos termelési paramétert sikerült javítani, ezért az 1970-es évektől az egész világon elterjedtek. Később azonban a potenciálisan patogén mikrobák antibiotikum-rezisztenciájának veszélye miatt egyre több hatóanyag alkalmazását tiltották be, végül – 2006. január 1-től – a kokcidiosztatikumok kivételével minden antibiotikum hozamfokozó célú felhasználását betiltották az Európai Unióban. Ennek következtében megnőtt az igény a hozamfokozók alternatívái iránt.

Az alternatív hozamfokozók ígéretes csoportját alkotják a fitobiotikumok, melyek a gazdasági állatok termelésére kedvező hatást gyakoroló növényi eredetű anyagokat foglalják magukba (Erdélyi és mtsai, 2004). A bemutatásra kerülő kísérletben két, a fitobiotikumok csoportjába tartozó növény – a rozmaring és a fokhagyma - esszenciális olajainak hatásait vizsgáltuk.

A rozmaring fő biológiailag aktív hatóanyagai a karnozol, karnozolsav és észterei (Boutekedjiret és mtsai, 2003). Rozmaringgal végzett kísérletek eredményei arra utalnak, hogy annak fenolos vegyületei az α -tokoferolhoz hasonlóan fejtik ki hatásukat (McCarthy és mtsai, 2001). Számos kísérlet igazolta, hogy takarmánnyal bevitt, ill. post mortem hozzáadott rozmaring kivonat használata ellenállóvá teszi a húsban lévő többszörösen telítetlen zsírsavakat és a koleszterint az oxidatív hatásokkal szemben, ezáltal javítja a baromfi és sertéshús eltarthatóságát (McCarthy, 2001; Smet és mtsai, 2005; Govaris és mtsai, 2007).

A fokhagyma fő hatóanyaga az alliin (kb. 1%), ill. ennek származékai. Dwivedi és mtsai (1998) a fokhagyma számos szerves kénvegyülete közül a diallil-diszulfidot (DADS) találta antioxidáns hatásúnak. Yin és Cheng (2003) szerint a fokhagymából származó diallil-szulfid (DAS), diallil-diszulfid (DADS), S-etil-cisztein (SEC) és n-acetil-cisztein (NAC) darált marhahúsban szignifikánsan csökkentette az oximiogloblin- és lipid-oxidációt. Yamasaki és mtsai (1994) in vitro sejtenyésztésben végzett vizsgálataira utalnak, a fokhagymakivonat védi a sejteket az oxidatív stressztől.



Anyag és módszer

A kísérletbe *Hubbard brojlercsirkéket* állítottunk be ($n= 200$), melyeket 50 fős csoportokra osztottunk. A kontroll csoport gyógyszer és hozzáadott antioxidáns-mentes kereskedelmi intenzív brojler indító abrakkeveréket kapott, míg a kísérleti csoportok takarmányát 0,15% rozmaring olajjal, 0,025% fokhagyma olajjal vagy a kettő keverékével (0,15% rozmaring- és 0,025% fokhagymaolaj) egészítettük ki. A 6 hetes kísérlet végén csoportonként 10 állatból vér- és májmintát vettünk.

A vérmintákat a vágás során a nyaki erekből (*aa. carotis ext. et int. v. jugularis*) nyertük. A véralvadás gátlására EDTA–Na₂-t használtunk 0,2 M/l koncentrációban, 0,05 ml EDTA/ml vér arányban. A vérplazmát az alakos elemektől centrifugálással (2500g, 20 perc) választottuk el. A centrifugált vérmintákból vérplazmát szeparáltunk. A vörösvérsejteket háromszori, élettani sóoldatban történő mosást követően 1:9 arányban bidesztillált vízzel hemolizáltuk. Az így elkészített vérplazma és vörösvértest hemolizátum mintákat felhasználásig -18 °C-on tároltuk. A vörösvértestek hemolíziséhez hipoozmotikus közeg mellett a fagyasztás és felolvasztás folyamata is hozzájárult.

A májmintákat *post mortem* gyűjtöttük a jobb lebeny disztális régiójából, és felhasználásig -18 °C-on tároltuk. A biokémiai vizsgálatok előtt a minták felolvasztását követően szövet-homogenizátumot készítettünk 9-szeres mennyiségű hideg (4 °C) fiziológiás sóoldatban. A malondialdehid koncentráció meghatározásához a natív homogenátumot, míg a GSH-koncentráció, valamint a glutation peroxidáz aktivitás és a hozzá tartozó fehérjekoncentráció méréséhez a homogenizátum 10.000 g szupernatans frakcióját (centrifugálás 10.000 g, 20 perc, 4°C) használtuk (Mézses, 1999).

A vér és máj minták malondialdehid (MDA) koncentrációját a *Placer és mtsai* (1966) által kidolgozott és *Matkovics és mtsai* (1988) által módosított módszernek megfelelően mértük. A mérés azon az elven alapul, hogy a malondialdehid 2-tiobarbitursavval savanyú közegben és magas hőmérsékleten sárgás-vörös színű komplexet képez, melynek abszorpciós maximuma 535 nm hullámhosszon van, így az spektrofotometriásan mérhető.

A minták redukált glutation (GSH) koncentrációját *Sedlak és Lindsay* (1968) módszerének megfelelően mértük. Az eljárás alapját a glutation szabad SH-csoportjának szulfhidril-reaktív anyaggal (5,5'-ditiobis-2-nitro-benzoosavval) adott színes komplexképző reakciója képezi, mely sárga színű komplexet eredményez és fotometriásan mérhető.



A glutation-peroxidáz (GSHPx) végponbtos direkt esszével mértük. A módszer azon az elven alapul, hogy reaktív oxigéngyökök jelenlétében a redukált glutation (GSH) az enzim közreműködésével glutation-diszulfiddá (GSSG) oxidálódik. A mérési rendszerben az enzim ko-szubsztrátjaként redukált glutation és kumulhidroperoxid szerepel. (Matkovics és mtsai, 1988). A GSH-fogyás mérését az 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoészav)-val képzett komplex fényelnyelésének 412 nm hullámhosszon spektrofotométerrel történő abszorbancia mérésével határoztuk meg.

Az enzimaktivitást a minták fehérjetartalmára vonatkoztatva adtuk meg. Ezért mértük a vérplazma, a vörösvérsejt hemolizátum ill. a máj homogenátum szupernatáns fázisának fehérjekoncentrációját. Az előbbieket biuret-reakció révén határoztuk meg (Weichselbaum 1948), míg a máj esetében a Folin-fenol reagensek fehérjével adott színreakciója alapján mértünk (Lowry és mtsai, 1951).

Eredmények és értékelés

A vérplazma és a vörösvérsejtek glutation redox paramétereiben és MDA koncentrációjában nem találtunk szignifikáns eltéréseket a kísérleti csoportokban a kontrollhoz viszonyítva (1. táblázat).

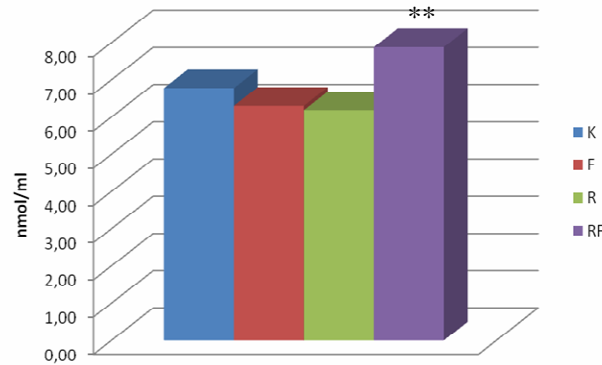
1. táblázat: A vérplazma és vörösvérsejt hemolizátum vizsgált glutation redox paramétereit és MDA koncentrációja

(K – kontroll, F – fokhagymaolajos, R – rozmaryngolajos, RF – rozmaryng- és fokhagymaolajos)

Vérplazma	K	F	R	RF	Vörösvérsejt	K	F	R	RF
MDA (nmol/ml)	4,41	4,28	4,54	4,02	MDA (nmol/ml)	9,23	10,26	10,26	9,51
GSH μ mol/gfeh.)	6,61	4,86	5,52	6,02	GSH (μ mol/gfeh.)	10,82	10,64	9,32	8,50
SHPx (E/g feh.)	10,94	8,24	8,44	9,23	GSHPx (E/g feh.)	5,86	6,87	6,65	6,10

Table 1. Gltathione redox parameters and MDA concentration of blood plasma and red blood-cell samples (K – controll, F – garlic, R – rosemary, RF – rosemary & garlic)

A májminták esetében a kombinált kezelésű csoport malondialdehid koncentrációja szignifikánsan meghaladta a kontroll és a két másik kezelt csoport értékeit is ($p < 0,01$) (1. ábra).



1. ábra: A májmintákban mért malondialdehid-tartalom

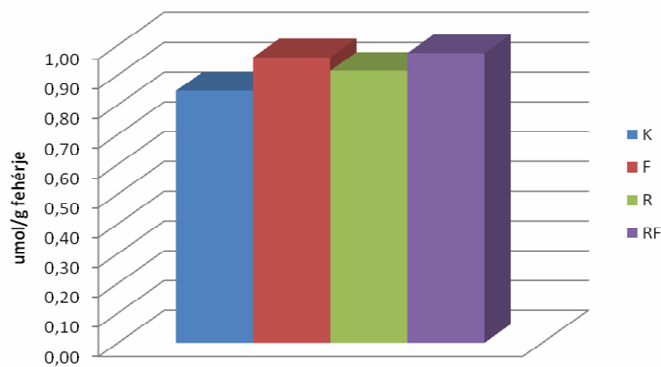
(K – kontroll, F – fokhagymaolajos, R – rozmaringolajos, RF – rozmaring- és fokhagymaolajos)

** p<0,01

Figure 1. Malondialdehyde levels of liver samples

(K – controll, F – garlic, R – rosemary, RF – rosemary & garlic)

Ugyanakkor a GSH koncentráció egyik csoportban sem mutatott számottevő eltérést (2. ábra).



2. ábra: A májmintákban mért redukált glutation-tartalom

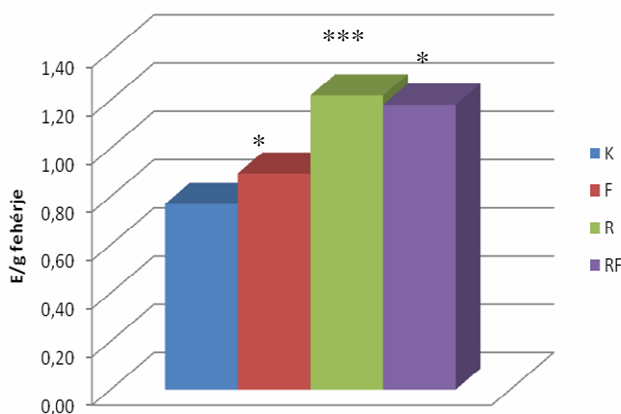
(K – kontroll, F – fokhagymaolajos, R – rozmaringolajos, RF – rozmaring- és fokhagymaolajos)

Figure 2. Reduced glutathione levels of liver samples

(K – controll, F – garlic, R – rosemary, RF – rosemary & garlic)



A glutation-peroxidáz aktivitás mindhárom kísérleti csoport májmintáiban szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz viszonyítva (3. ábra).



3. ábra: A májmintákban mért glutation-peroxidáz aktivitás - Glutathione peroxidase activity levels in liver samples

(K – kontroll, F – fokhagymaolajos, R – rozmaringolajos, RF – rozmaring- és fokhagymaolajos)

*** $p < 0,001$; * $p < 0,05$

Figure 3. Glutathione peroxidase activity levels in liver samples (K – controll, F – garlic, R – rosemary, RF – rosemary & garlic)

Következtetések, javaslatok

Az általunk alkalmazott esszenciális olajok a vér glutation redox rendszerében számottevő változásokat nem okoztak. A fokhagyma- ill. rozmaringolaj kedvező hatást gyakorolt a máj glutation redox rendszerére, minthogy hatására a glutation-peroxidáz aktivitás számottevően növekszik, miközben az antioxidáns védelem hatékony működésének köszönhetően csökken a malondialdehid koncentráció. A kombinált kezelés esetében jelentkező szignifikánsan magasabb MDA szint arra enged következtetni, hogy a kedvező redukált glutation-tartalom és a kontrollhoz képest szignifikánsan magasabb glutation-peroxidáz aktivitás ellenére is fokozott lipid-peroxidáció zajlik a májban.

A glutation redox rendszere gyakorolt kedvező hatása miatt mindkét olaj – önmagában alkalmazva – feltehetően eredménnyel segíthet oxidatív folyamatok leküzdésében. E feltételezés ellenőrzésére azonban további kísérletek szükségesek.



Irodalomjegyzék

- Amagase, H., Petesch, B.L., Matsuura, H., Kasuga, S., Itakura, Y.* (2001): Intake of garlic and its bioactive components. *J. Nutr.*, 131. 3. 955S-962S Suppl. 3.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R. And Bessiere, J.M.* (2003): Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour Fragrance. J.*, 18. 481–484.
- Costa, S., Wan, A. és mtsai* (2007) Carnosic acid from rosemary extracts: a potential chemoprotective agent against aflatoxin B1. An in vitro study. *J Appl. Toxicol.*, 27. 2. 152-159.
- Dwivedi, C., Rohlfs, S., Jarvis, D., Engineer, Fn.* (1992): Chemoprevention Of Chemically-Induced Skin Tumor-Development By Diallyl Sulfide And Diallyl Disulfide. *Pharmaceutical Res.*, 9. 12. 1668-1670.
- Erdélyi M., Eiben Cs., Hegyi K., Mézes M.* (2004): Rozmaring olaj hatása nyúl termelési paramétereire Takarmányos Tanszékek Országos Találkozója, április 6-7, Gödöllő, 14.
- Galobart, J., Barroeta, A.C., Baucells, M.D., Codony, R., Ternes, W.* (2001): Effect of dietary supplementation with rosemary extract and alpha-tocopheryl acetate on lipid oxidation in eggs enriched with omega 3-fatty acids. *Poultry Sci.*, 80. 4. 460-467.
- Govaris, A., Florou-Paneri, P. és mtsai* (2007): The inhibitory potential of feed supplementation with rosemary and/or alpha-tocopheryl acetate on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast during refrigerated storage. *Lwt-Food Technol.*, 40. 2. 331-337.
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.* (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193. 265-275.
- Martinez-Tome, M., Jimenez, A.M., Ruggieri, S., Frega, N., Strabbioli, R., Murcia, M.A.* (2001): Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. *J. Food Prot.*, 64. 9. 1412-1419.
- Matkovics B., Szabó L., Sz. Varga I.* (1988): Lipidperoxidáció és a redukált glutation anyagcsere enzimek aktivitás meghatározása biológiai mintákban. *Lab. Diagn.*, 15. 248-250.
- McCarthy, T.L., Kerry, J.P., Kerry, J.F., Lynch, P.B., Buckley, D.J.* (2001): Evaluation of the antioxidant potential of natural food / plant extracts as compared with synthetic antioxidants and vitamin E in raw and cooked pork patties *Meat Sci.*, 57. 45-52.
- Mei-chin Yin & Wen-shen Cheng* (2003): Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. *Meat Sci.*, 63. 1. 23-28.



- Mézes M., Virág Gy., Erdélyi, M.* (1999): Különböző kémiai formában adagolt szelén hatása a nyúl vérének szelénstátusára. *Magy. Állatorv. Lapja*, 121. 663-665.
- Placer, Z.A. Cushman, L.L., Johnson, B.C.* (1966): Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal. Biochem.*, 16. 359-364.
- Sebranek, J.G., Sewalt, V.J.H., Robbins, K.L., Houser, T.A.* (2005) Comparison of a natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. *Meat Sci.*, 69. 2. 289-296.
- Sedlak, I., Lindsay, R.H.* (1968): Estimation of total, protein-bound and non-protein sulfhydryl groups in tissues with Ellmann's reagent. *Anal. Biochem.*, 25. 192-205.
- Smet, K., Raes, K., Huyghebaert, G., Haak, L., Arnouts, S., De Smet, S.* (2005): Influence of feed enriched with natural antioxidants on the oxidative stability of broiler meat. 17th European Symposium on the Quality of Poultry Meat, Doorwerth, The Netherlands, 23-26 May, 99-106.
- Weichselbaum, T.E.* (1948): An accurate and rapid method for the determination of protein in small amounts of serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.*, 16. 40-43.
- Yamasaki, T., Li, L., Lau, Bhs.* (1994): Garlic Compounds Protect Vascular Endothelial-Cells From Hydrogen Peroxide-Induced Oxidant Injury. *Phytotherapy Res.*, 8. 7. 408-412.