

## تأثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن بر عملکرد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و گازهای خونی جوجه‌های گوشتی در یافت‌کننده‌ی نیترات سدیم در آب آشامیدنی

• محسن دانشیار (نویسنده مسئول)

استادیار گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

• توحید بومی

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: خرداد ۹۲ تاریخ پذیرش: مرداد ۹۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۴۴۳۲۹۷۲۳۴۱

Email: mohsen\_daneshyar@yahoo.com

### چکیده

آزمایشی با استفاده از ۲۲۰ قطعه جوجه‌ی نر گوشتی یکروزه سویه راس (۳۰۸) به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد عصاره‌ی آویشن در آب آشامیدنی حاوی نیترات سدیم (۲۷/۴ میلی‌گرم در لیتر) بر عملکرد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی و گازهای خون انجام گرفت. تفاوت معنی‌داری بین تیمارها برای افزایش وزن و مصرف خوراک در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره آزمایشی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). در دوره‌ی آغازین، نیترات تأثیری بر ضریب تبدیل نداشت ولی مصرف بالاترین سطح عصاره‌ی آویشن باعث افزایش ضریب تبدیل گردید ( $P < 0/05$ ). در دوره-ی رشد، پایانی و کل دوره هم تفاوت معنی‌داری بین ضریب تبدیل تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). هیچکدام از تیمارهای آزمایشی تأثیری بر اسیداوریک، کراتینین، پروتئین کل، مالون دی‌آلدئید، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فراسنجه‌های گازهای خون در ۴۲ روزگی نداشتند ( $P > 0/05$ ). مصرف نیترات منجر به افزایش اوره خون گردید در حالی که مکمل‌سازی عصاره‌ی آویشن، سطح آن را کاهش داد ( $P < 0/05$ ). به طور کلی اگرچه مصرف ۲۷/۴ میلی‌گرم نیترات در آب آشامیدنی باعث ایجاد آسیب‌های کلیوی و در نتیجه افزایش اوره خون در جوجه‌های گوشتی در اواخر دوره آزمایش (۴۲ روزگی) می‌گردد ولی تغییری در عملکرد، فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدان خون و همچنین گازهای خونی ایجاد نمی‌کند که بیانگر عدم ایجاد مت‌هموگلوبینمی و پراکسیداسیون است. اما مصرف عصاره‌ی آویشن در جوجه‌های تحت تیمار نیترات از طریق کاهش آسیب‌های کلیوی آخر دوره ناشی از نیترات باعث کاهش اوره خون می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: اسید اوریک، اوره، گازهای خونی، ضریب تبدیل خوراک، مالون‌دی‌آلدئید.

Animal Sciences Journal (Pajouhesh &amp; Sazandegi) No 104 pp: 123-134

**Effects of alcoholic extract thyme on the performance, antioxidant status and blood gas indices of broiler chickens received sodium nitrate in drinking water.**By: Tohid Boomi<sup>1</sup>, Mohsen Daneshyar<sup>#2</sup><sup>1</sup>MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran<sup>2</sup>#Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran

# Corresponding author: mohsen\_daneshyar@yahoo.com or m.daneshyar@urmia.ac.ir

Urmia, Iran (Corresponding Author; Tel: +984412972341)

**Received: June 2013****Accepted: August 2013**

An experiment was conducted with two hundred and twenty day-old male broiler chicks (Ross 308) in five groups to investigate the effects of different levels of 0, 0.2, 0.4 and 0.6% thyme extract in drinking water (including 27.4 mg sodium nitrate per liter) on broiler performance and antioxidant status and blood gas indices. No significant differences were observed between the treatments for body weight gain and feed consumption during the starter, grower, finisher and whole the experimental periods ( $P > 0.05$ ). Nitrate consumption had no effect on feed conversion ratio during the starter period, but consumption of highest thyme level increased it ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference between the treatments for feed conversion ratio during the grower, finisher and whole the experimental periods ( $P > 0.05$ ). None of the experimental treatments affected the blood uric acid, creatinine, total protein, malondialdehyde, total antioxidant capacity and blood gas indices at day 42 of age ( $P < 0.05$ ). Nitrate consumption increased the blood urea whereas thyme extract supplementation decreased it ( $P < 0.05$ ). It was concluded that consumption of 27.4 mg nitrate per liter drinking water causes the kidney injuries and higher blood urea in the end of the experimental period (day 42 of age) as a consequence but does not changes the performance, antioxidant indices and blood gas indicates, that shows the lack of induced methemoglobinemia and peroxidation. The thyme extract consumption in drinking water of broiler chicken decreases the blood urea through the diminished kidney injuries.

**Key words:** blood gases, feed conversion ratio, malondialdehyde, urea, uric acid.**مقدمه**

منفی مصرف ترکیبات نیتراته بر طيور نیز در تعدادی از تحقیقات به اثبات رسیده است. به عنوان نمونه افزودن ۴/۲ گرم در کیلوگرم سدیم نیترات یا ۱/۷ گرم در کیلوگرم سدیم نیتريت به جیره اثرات معکوسی بر رشد و وضعیت ایمنولوژیکی، اریتروسیت‌ها، کبد و کلیه جوجه خروس‌ها داشته است و سبب کاهش رشد، کاهش وزن بورس فابرسیوس گردیده است و همچنین سبب افزایش میزان فعالیت پیرویک ترانس آمیناز و میزان اوره و کراتینین خون شده است (Atef et al., 1991). مصرف بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم نیترات در لیتر آب آشامیدنی تاثیر منفی بر وزن، ضریب تبدیل خوراک و عملکرد در جوجه‌های گوشتی داشته است (Carter and Sneed., 1987). یکی از عوارض مصرف نیترات و نیتريت، القای تنش اکسیداتیو از طریق تولید رادیکال‌های آزاد است (Singhal et al., 2001; Manassaram, 2006)

تولید محصولات کشاورزی در خاک‌های با حاصلخیزی کم، با استفاده از مقادیر زیاد کودهای نیتروژنی انجام می‌شود. اگرچه مصرف این کودها در این مناطق از اهمیت زیادی برخوردار است ولی عوارضی بر سلامتی انسان و حیوانات دارد (Kasyanenko et al., 1992). خطر بالقوه نیترات، قابلیت تبدیل آن به نیتريت و تولید مت‌هموگلوبین است و مت‌هموگلوبین را به وجود می‌آورد که توانایی انتقال اکسیژن ندارد و منجر به هیپوکسمی می‌گردد (Phillips., 1971). نیترات و نیتريت در گونه‌های مختلف حیوانات عوارضی از قبیل سرطان، مسمومیت کبدی، اختلال در عملکرد تولید مثلی، اختلالات غدد درون ریز، تعویق رشد، تخریب ویتامین A، مت‌هموگلوبینمیا و اختلال در مکانیسم‌های دفاعی خاص مربوط به پاسخ التهابی و آسیب بافتی را ایجاد می‌کند (Slepchenko and KhnerNitskh., 1988). اثرات

هیدروکربن‌هایی مانند ترپین و پی-سایمن موجود در آویشن نیز دارای چنین خواصی هستند (Baydar et al., 2004). گزارشاتی در رابطه با اثرات بهبود دهنده ترکیبات مشتق شده از گیاه آویشن بر عملکرد طیور وجود دارد. برای مثال، افزودن اسانس آویشن به جیره و یا آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل شده است (Alcicek et al., 2004). مکمل‌سازی ۳۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک از یک ترکیب حاوی کپسایسین، سینامالدهید و کارواکرول اثرات مثبتی بر افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی داشته است (Jamroz and Kamel., 2002). Cross و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که استفاده از اسانس آویشن باعث بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی می‌شود. جدا از اثرات سودمند بر عملکرد، اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیبات مختلف این گیاه هم در تحقیقات مختلف ثابت شده است. برای مثال، Bölükbaşı و همکاران (۲۰۰۶) دریافتند که روغن آویشن به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در جوجه‌های گوشتی باعث کاهش معنی-دار تیوباریتیویک اسید در قسمت ران و سینه می‌شود. مصرف روغن آویشن و مکمل خوراکی تیمول (۴۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) اثر مثبتی بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از قبیل سوپراکسیددیسموتاز، گلوکاتیون پراکسیداز و کاتالاز در کبد، کلیه و قلب موش (۷ ماهه و ۲۸ ماهگی از سن) داشته است (Youdim and Deans., 1999). بنابراین با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی گیاه آویشن و اجزای موجود در آن، به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره‌ی این گیاه بتواند تنش اکسیداتیو ناشی از نیترات را در بدن جوجه‌های گوشتی رفع کند و از طریق بهبود وضعیت آنتی-اکسیدانی و احتمال کاهش آسیب‌های بافتی باعث بهبود عملکرد گردد. به همین منظور تاثیر سطوح صفر، ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد عصاره هیدروالکلی آویشن بر عملکرد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی (ظرفیت آنتی-اکسیدانی کل، اسیداوریک و مالون دی آلدئید)، آسیب‌های کبدی و کلیوی (اوره و کراتینین کل و پروتئین کل) همچنین فراسنجه‌های گازهای خونی (pH، فشار اکسیژن، فشار دی‌اکسید کربن، درصد اشباع شدن اکسیژن با هموگلوبین و بی‌کربنات خون) در جوجه‌های گوشتی دریافت کننده نیترات سدیم مورد بررسی قرار گرفت.

نیترات‌ها به راحتی در بدن تولید اکسید نیتریک می‌کنند. این ماده با سوپر اکسید واکنش داده و پراکسی نیتريت تولید می‌کند (Chow and Hong., 2002). سوپراکسید و پراکسی نیتريت جزو ترکیبات فعال هستند که باعث پراکسیداسیون چربی در غشاهای سلولی می‌شوند (Salvemini and Cuzzocrea., 2002). که می‌تواند به ارگان‌های مختلف از قبیل کبد و کلیه مضر باشد (Rocha et al., 2012). این محصولات می‌توانند پراکسیداسیون چربی را افزایش دهند و در نتیجه برای اندام‌های کبد و کلیه مضر باشند (Choi et al., 2002 ; Santamaria, 2006). گزارشات اندکی در مورد اثرات زیان آور نیترات یا نیتريت بر عملکرد طیور وجود دارد. Barton و همکاران (۱۹۸۶) گزارش کردند که نیترات آب می‌تواند سبب کاهش نرخ رشد حیوانات به ویژه جوجه‌های گوشتی شود. مصرف نیترات سدیم (۴/۲ گرم در کیلوگرم) در نژادهای بومی بلادی، کاهش رشد و مت‌هموگلوبینمیا را به دنبال داشته است (Atef et al., 1991). توانایی حیوانات برای مقاومت در برابر اثرات مضر نیترات بستگی به قدرت سمیت زدایی و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی بدن است. تعدادی از مواد مغذی از قبیل ویتامین‌ها، عناصر کمیاب، اسیدهای آمینه و مشتقات آن‌ها، اسیدهای چرب و فنل‌های گیاهی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی هستند (Ayo et al., 2006 ; Suteu et al., 2007). تاکنون هیچ تحقیقی در رابطه با تاثیر آنتی‌اکسیدان-ها بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی طیور تحت تیمار نیترات صورت نگرفته است. در موش‌های تغذیه شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم نیترات سدیم در کیلوگرم جیره، کمبود ویتامین E و سلنیوم منجر به افزایش تلفات (۴۰ درصد) گردیده است در حالی که مکمل‌سازی جیره با ۱۰ واحد بین‌المللی ویتامین E یا ۰/۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سلنیوم از تلفات جلوگیری کرده است (Chow et al., 1984). آویشن (*Thymus vulgaris L*) گیاهی چند ساله و متعلق به خانواده نعناع (*Lamiaceae*) است. تیمول و کارواکرول، اجزای تشکیل دهنده‌ی اصلی روغن آویشن هستند و دارای اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Sharafzadeh et al., 2011). علاوه بر این ترکیبات،

## مواد و روش ها

تعداد ۲۲۰ قطعه جوجه‌ی نر گوشتی یک روزه (سویه‌ی تجاری راس ۳۰۸) به طور تصادفی بین ۲۰ قفس (۱۱ پرنده در هر قفس) تقسیم شدند و هر ۴ تکرار به یکی از تیمارهای آزمایشی اختصاص داده شد. جیره‌ی پایه ذرت- سویا مشابه از نظر انرژی، پروتئین و سایر مواد مغذی برای تغذیه‌ی همه‌ی جوجه‌ها در تیمارهای مختلف آزمایشی مورد استفاده قرار گرفت. جیره‌ی پایه بر اساس نیازمندی‌های سویه‌ی راس تنظیم شد. همه‌ی پرندگان با جیره‌ی آغازین (از یکروزگی تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ روزگی تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی) مشابهی تغذیه شدند (جدول ۱) اما پرندگان گروه‌های مختلف سطوح تیمارهای آبی متفاوتی را دریافت کردند. جوجه‌های تیمار شاهد فاقد هیچگونه افزودنی در آب بودند، در حالی‌که پرندگان گروه‌های دیگر نترات سدیم (۲۷/۴ میلی‌گرم) را در آب آشامیدنی به تنهایی و یا همراه با سطوح مختلف ۰/۲، ۰/۴ و ۰/۶ درصد عصاره‌ی آویشن از یکروزگی تا پایان آزمایش دریافت کردند. گزارش شده است که سطوح بالای ۲۰ میلی‌گرم نترات در جوجه‌های گوشتی و پالت‌های بوقلمون منجر به کاهش عملکرد می‌گردد (Marrett et al., 1968). به همین خاطر در تحقیق اخیر سطح ۲۷/۴ میلی‌گرم نترات سدیم (دارای ۷۳ درصد نترات بر اساس جرم مولکولی) در آب استفاده شد که حاوی ۲۰ میلی‌گرم نترات خالص است که با ۵/۴ میلی‌گرم نترات موجود در آب، نترات خالص موجود در آب آشامیدنی تیمارهای حاوی نترات، ۲۵/۴ میلی‌گرم در آب بود. نترات موجود در آب با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV/Visible, Unico, 2100 (USA) و روش استاندارد ۲۰۰۶ (ISO) اندازه‌گیری شد (Merino, 2008). عصاره‌ی آویشن (آویشن باغی) از شرکت اکسیرگل سرخ مشهد تهیه شد. برای اندازه‌گیری کارواکرول عصاره، ابتدا عصاره در یک حلال قطبی مانند دی‌کلرومتان یا هگزان حل شد، سپس استخراج اسانس از عصاره انجام شد. سپس اسانس به دستگاه PV 4500 Shimadzu GC Chromatograph تزریق شده و درصد ماده موثره آن (کارواکرول) اندازه‌گیری شد که ۰/۲۶۵ درصد بود. آب و خوراک

به صورت آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. پرندگان در طول آزمایش در معرض ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی قرار گرفتند. افزایش وزن بدن، میانگین مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره آزمایش اندازه‌گیری و محاسبه شد. در پایان دوره (۶ هفته‌گی)، یک جوجه از هر واحد آزمایشی به طور تصادفی انتخاب و کشتار گردید. نمونه‌های خونی این جوجه‌های کشتار شده در لوله‌های حاوی مواد ضد انعقادی (EDTA) جمع‌آوری گردید. پلاسما‌ی این نمونه‌ها بعد از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ جدا شد و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتیگراد ذخیره گردید. ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی پلاسما با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و کیت راندوکس (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, UK) اندازه‌گیری شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید در حقیقت بیانگر میزان پراکسیداسیون چربی‌های پلاسما می‌باشد که تا حدود زیادی فساد اکسیداتیو را بیان می‌کند. این پارامتر بوسیله‌ی واکنش با اسید تیوباریتوریک بعد از استخراج با بوتانول مشخص شد (Kolahi et al., 2011). کراتینین و اسیداوریک توسط کیت تشخیصی پارس آزمون و اوره توسط کیت زیست شیمی اندازه‌گیری شد. پروتئین کل توسط با استفاده از کیت تشخیصی پارس آزمون و روش اسپکتروفوتومتری (Alcyon 300, USA) اندازه‌گیری گردید. فراسنجه‌های مربوط به گازهای خون (pH، بی‌کربنات، فشار اکسیژن، فشار دی‌اکسید کربن و درصد اشباع شدن اکسیژن با هموگلوبین) توسط دستگاه Nova Biomedical Blood Gas Analyzer, Phox Plus (Diamond Diagnostics Inc., USA) اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۴ تکرار برای هر کدام با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS (Version 9.1) مورد آنالیز قرار گرفتند و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. از مقایسات مستقل (Orthogonal) نیز برای مقایسه‌ی فراسنجه‌های عملکردی و آنتی‌اکسیدانی بین جوجه‌های مصرف‌کننده‌ی آویشن و مصرف‌کننده‌ی نترات استفاده شد.

جدول ۱- اجزا و ترکیب جیره‌ی پایه مورد استفاده در آزمایش

پایانی	رشد	آغازین	اجزا(درصد)
۳۹/۲۸	۳۴/۴۵	۳۲/۹۹	دانه ذرت
۲۵	۲۵	۲۰	دانه گندم
۳/۳۰	۲/۹۰	۲/۹۴	روغن سویا
۲۸/۲۳	۳۳/۵۰	۳۹/۳۳	کنجاله دانه سویا (۴۴ درصد پروتئین)
۲/۱۵	۲/۱۵	۲/۱۰	دی کلسیم فسفات
۰/۸۶	۰/۸۶	۱/۱۰	سنگ آهک
۰/۲۰	۰/۲۲	۰/۲۹	ال-لیزین
۰/۱۴	۰/۰۸	۰/۳۸	دی ال - متیونین ۹۸ درصد خلوص
۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۵۰	مکمل مواد معدنی و ویتامینی
۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۷	نمک
۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	جمع کل
ترکیب شیمیایی محاسبه شده			
۸۶/۲۷	۸۶/۲۱	۸۵/۹۸	ماده خشک (درصد)
۳/۰۰	۲/۹۳	۲/۸۶	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در گرم)
۱۷/۹۹	۱۹/۹۹	۲۱/۹۹	پروتئین خام (درصد)
۵/۴۷	۴/۹۳	۴/۸۷	چربی خام (درصد)
۳/۴۴	۳/۷۰	۳/۹۶	فیبر (درصد)
۰/۸۹	۰/۹۰	۱/۰۰	کلسیم (درصد)
۰/۴۴	۰/۴۵	۰/۴۵	فسفر قابل دسترس (درصد)
۲/۰۲	۲/۰۰	۲/۲۲	نسبت کلسیم به فسفر (درصد)
۰/۲۹	۰/۳۰	۰/۳۳	کلر (درصد)
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۶	سدیم (درصد)
۰/۴۱	۰/۳۸	۰/۷۰	متیونین (درصد)
۱/۰۹	۱/۲۴	۱/۴۲	لیزین (درصد)
۱/۲۲	۱/۳۷	۱/۵۳	آرژنین (درصد)
۰/۷۴	۰/۷۳	۱/۰۷	متیونین - سیستین (درصد)
۰/۲۳	۰/۲۶	۰/۲۹	تریئوفان (درصد)
۰/۸۱	۰/۸۹	۰/۹۸	تیروزین (درصد)
۰/۶۹	۰/۷۷	۰/۸۵	ترئونین (درصد)

<sup>۱</sup>رتینول: ۹۰۰۰ واحد بین المللی، آلفا توکوفرول استات: ۱۸ واحد بین المللی، سیانو کوبالامین: ۱۵/۰ میلی گرم، ریوفلاوین: ۶/۶ میلی گرم، کلسیم پانتوتات: ۱۰ میلی گرم، نیاسین: ۳۰ میلی گرم، کولین ۵۰۰ میلی گرم، بیوتین: ۱/۰ میلی گرم، تیامین: ۸/۱ میلی گرم، پیرودوکسین، ۳ میلی گرم، اسید فولیک: ۱ میلی گرم، ویتامین منادیون: ۲ میلی گرم، آنتی اکسیدان (توکسی کوئین): ۱۰۰ میلی گرم، منگنز: ۱۰۰ میلی گرم، روی: ۵۰ میلی گرم، مس: ۱۰ میلی گرم، آهن: ۵۰ میلی گرم، ید: ۱ میلی گرم، سلنیوم: ۰/۲ میلی گرم

## نتایج

خوراک در دوره‌های آغازین تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ( $P < 0/05$ ). در دوره‌ی آغازین، نیترا ت تاثیر بر ضریب تبدیل نداشت ولی مصرف بالاترین سطح عصاره‌ی آویشن باعث افزایش ضریب تبدیل گردید ( $P < 0/05$ ). در دوره‌ی رشد، پایانی و کل دوره هم تفاوت معنی‌داری بین ضریب تبدیل تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. در مقایسات مستقل هم، مصرف عصاره تغییری در فراسنجه‌های مختلف عملکردی در مقایسه با نیترا ت در هیچ‌کدام از دوره‌های آزمایشی ایجاد نکرد ( $P > 0/05$ ).

جدول ۲، ۳ و ۴ نتایج مربوط به تاثیر مصرف نیترا ت و سطوح مختلف آویشن را به ترتیب برای افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره را نشان می‌دهد. تفاوت معنی‌داری بین تیمارها برای افزایش وزن و مصرف خوراک در دوره‌های آغازین، رشد، پایانی و کل دوره آزمایشی مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). بعلاوه در مقایسات مستقل هم مصرف عصاره تغییری در افزایش وزن و مصرف خوراک در مقایسه با نیترا ت ایجاد نکرد ( $P > 0/05$ ). ضریب تبدیل

جدول ۲. میانگین افزایش وزن بدن (گرم) جوجه‌های گوشتی دریافت کننده‌ی سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن همراه با نیترا ت سدیم در آب آشامیدنی از ۱ تا ۴۲ روزگی

تیمار	آغازین	رشد	پایانی	کل
شاهد	۱۷۳/۰۱	۶۷۹/۱۲	۱۵۵۷/۲۶	۲۴۰۹/۴
نیترا ت	۱۶۷/۵۷	۷۳۸/۳۷	۱۵۵۷/۶۳	۲۴۶۳/۶
نیترا ت و ۰/۲ درصد آویشن	۱۶۶/۵۲	۷۴۳/۷۴	۱۵۳۵/۳۰	۲۴۴۵/۶
نیترا ت و ۰/۴ درصد آویشن	۱۶۷/۹۸	۷۳۵/۴۳	۱۵۴۲/۲۵	۲۴۴۵/۷
نیترا ت و ۰/۶ درصد آویشن	۱۶۲/۱۰	۷۵۰/۹۳	۱۵۶۲/۳۶	۲۴۷۵/۴
استاندارد خطا <sup>۱</sup>	۳/۱۲	۱۶/۹۵	۱۳/۹۰	۲۰/۸۷
درصد احتمال	۰/۸۹۷	۰/۷۲۳	۰/۹۷۶	۰/۹۱۰
عصاره در مقابل نیترا ت	۰/۹۶۱	۰/۷۸۸	۰/۶۷۸	۰/۹۴۹

<sup>۱</sup> Pooled SEM

جدول ۳. میانگین مصرف خوراک (گرم) جوجه‌های گوشتی دریافت کننده‌ی سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن همراه با نیترا ت سدیم در آب آشامیدنی از ۱ تا ۴۲ روزگی

تیمار	آغازین	رشد	پایانی	کل
شاهد	۱۵۱/۲۴	۱۰۶۶/۵۰	۳۰۵۰/۴۵	۴۲۶۸/۲
نیترا ت	۱۳۹/۰۷	۱۱۸۱/۹۰	۳۰۰۸/۱۰	۴۳۲۹/۱
نیترا ت و ۰/۲ درصد آویشن	۱۳۸/۲۲	۱۱۲۱/۰۶	۲۹۶۰/۳۶	۴۲۱۹/۶
نیترا ت و ۰/۴ درصد آویشن	۱۴۲/۴۱	۱۱۷۳/۷۵	۲۹۶۹/۲۰	۴۲۸۵/۴
نیترا ت و ۰/۶ درصد آویشن	۱۵۷/۱۷	۱۲۰۴/۸۲	۳۰۴۳/۵۵	۴۴۰۵/۵
استاندارد خطا <sup>۱</sup>	۳/۱۵	۲۳/۲۷	۲۹/۱۹	۴۷/۶۷
درصد احتمال	۰/۲۴۴	۰/۳۷۸	۰/۸۴۳	۰/۸۲۲
عصاره در مقابل نیترا ت	۰/۳۹۵	۰/۷۱۲	۰/۴۳۶	۰/۷۱۶

<sup>۱</sup> Pooled SEM

جدول ۴. میانگین ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی دریافت کننده‌ی سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن همراه با نیترات سدیم در آب آشامیدنی از ۱ تا ۴۲ روزگی

تیمار	آغازین	رشد	پایانی	کل
شاهد	۰/۸۷ <sup>b</sup>	۱/۵۷	۱/۹۵	۱/۷۷
نیترات	۰/۸۳ <sup>b</sup>	۱/۶۰	۱/۹۳	۱/۷۵
نیترات و ۰/۲ درصد آویشن	۰/۸۳ <sup>b</sup>	۱/۵۰	۱/۹۳	۱/۷۲
نیترات و ۰/۴ درصد آویشن	۰/۸۴ <sup>b</sup>	۱/۶۰	۱/۹۲	۱/۷۵
نیترات و ۰/۶ درصد آویشن	۰/۹۷ <sup>a</sup>	۱/۶۱	۱/۹۵	۱/۷۷
استاندارد خطا <sup>۱</sup>	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۱
درصد احتمال	۰/۰۰۲	۰/۲۷۷	۰/۹۸۴	۰/۵۹۱
عصاره در مقابل نیترات	۰/۱۲۶	۰/۹۶۸	۰/۷۳۷	۰/۵۵۴

میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Pooled SEM

### فراسنجه‌های خونی

مکمل‌سازی عصاره‌ی آویشن، سطح اوره را به حال عادی کاهش داد ( $P < 0.05$ ). اگرچه تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی برای مالون دی آلدئید خون وجود نداشت ولی این فراسنجه در مقایسات مستقل تمایل به معنی‌دار شدن داشت ( $P = 0.06$ ). و مصرف عصاره در مقایسه با نیترات منجر به کاهش عددی مالون دی آلدئید خون گردید ( $P < 0.05$ ).

جدول ۵ نتایج مربوط به تأثیر مصرف نیترات و سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن بر اوره، اسیداوریک، کراتینین، پروتئین کل، ظرفیت کل آنتی-اکسیدانی و مالون دی آلدئید خون را در سن ۶ هفته‌گی نشان می‌دهد. هیچکدام از تیمارهای آزمایشی تأثیری بر اسیداوریک، کراتینین، پروتئین کل و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی در ۴۲ روزگی نداشتند ( $P > 0.05$ ). مصرف نیترات منجر به افزایش اوره گردید در حالی که

جدول ۵. فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدان خون جوجه‌های گوشتی (در سن ۶ هفته‌گی) دریافت کننده‌ی نیترات سدیم یا سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن در آب آشامیدنی

تیمار	اسیداوریک (میلی گرم در دسی لیتر)	اوره (میلی گرم در دسی لیتر)	کراتینین (میلی گرم در دسی لیتر)	پروتئین کل (میلی گرم در دسی لیتر)	آنتی‌اکسیدان کل (میلی مول بر لیتر)	مالون دی آلدئید (نانومول بر میلی لیتر)
شاهد	۹/۸	۱/۷۵ <sup>b</sup>	۰/۲۶	۴/۶۵	۲/۱۴	۳/۴۰
نیترات	۹	۳/۰۰ <sup>a</sup>	۰/۳۲	۴/۵۲	۱/۴۱	۴/۲۶
نیترات و ۰/۲ درصد آویشن	۸	۱/۲۵ <sup>b</sup>	۰/۲۶	۵/۱۰	۱/۶۸	۲/۲۶
نیترات و ۰/۴ درصد آویشن	۷/۱۵	۱/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۲۸	۴/۶۲	۱/۸۶	۲/۷۵
نیترات و ۰/۶ درصد آویشن	۷/۶۶	۱/۵۰ <sup>b</sup>	۰/۲۹	۴/۷۲	۱/۷۴	۳/۷۵
استاندارد خطا <sup>۱</sup>	۰/۴	۰/۱۹	۰/۰۱	۰/۱	۰/۱۳	۰/۳۳
درصد احتمال	۰/۳۰۰	۰/۰۰۴۵	۰/۶۵۰	۰/۴۷۳	۰/۶۰۰	۰/۱۶۷
عصاره در مقابل نیترات	۰/۲۵۱	۰/۰۰۰۳	۰/۳۱۰	۰/۲۸۹	۰/۳۵۹	۰/۰۶۵

میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت در هر ستون اختلاف معنی‌داری با هم دارند ( $P < 0.05$ ).

<sup>۱</sup> Pooled SEM

## گازهای خون

هیچکدام از تیمارهای آزمایشی تاثیری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده گازهای خون در ۴۲ روزگی نداشتند ( $P > 0.05$ ).

تاثیر مصرف نیترات و سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن بر pH، فشار اکسیژن، فشار دی‌اکسید کربن، درصد اشباع شدن اکسیژن و بی‌کربنات خون در آخر دوره‌ی آزمایش در جدول ۶ آمده است.

جدول ۶. فراسنج‌های گازهای خون جوجه‌های گوشتی (در سن ۶ هفتگی) دریافت‌کننده‌ی نیترات سدیم یا سطوح مختلف عصاره‌ی آویشن در آب آشامیدنی

تیمار	pH	فشار جزئی اکسیژن (میلی مول جیوه)	فشار جزئی دی‌اکسید کربن (میلی مول جیوه)	اشباع شدن اکسیژن با هموگلوبین (درصد)	بی‌کربنات (میلی مول در لیتر)
شاهد	۷/۴۶	۴۳/۸۶	۴۵/۷۳	۵۰/۰۶	۳۲/۸۳
نیترات	۷/۳۸	۳۹/۵۰	۵۶/۰۳	۴۱/۹۰	۳۵/۲۰
نیترات و ۰/۲ درصد آویشن	۷/۳۸	۴۰/۷۳	۵۱/۲۰	۴۲/۴۰	۳۱/۸۰
نیترات و ۰/۴ درصد آویشن	۷/۳۹	۴۳/۶۵	۵۵/۹۳	۵۲/۰۵	۳۴/۹۰
نیترات و ۰/۶ درصد آویشن	۷/۴۳	۴۳/۸۵	۴۶/۱۰	۴۸/۹۶	۳۱/۸۵
استاندارد خطا <sup>۱</sup>	۰/۰۱	۱/۴	۱/۸	۱/۹	۰/۶۷
درصد احتمال	۰/۳۰۸	۰/۸۸۳	۰/۱۶۳	۰/۶۱۳	۰/۳۸۲
عصاره در مقابل نیترات	۰/۴۷۷	۰/۵۱۷	۰/۲۴۳	۰/۴۴۲	۰/۲۴۳

<sup>1</sup> Pooled SEM

## بحث

کارواکروول (Lee et al., 2003a) و مخلوط روغن‌های ضروری شامل پونه کوهی، سینامون، آویشن و کاپسیکوم (Zhang et al., 2005) به جیره گزارش شده است. بعلاوه هیچکدام از فراسنج‌های عملکرد در دروه‌های بعد تحت تاثیر عصاره‌ی آویشن قرار نگرفت. Lee و همکاران (۲۰۰۳b) گزارش کردند که مکمل‌سازی جیره با ۱۰۰ یا ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمول سبب بهبود عملکرد نشد، اگرچه تمایل مثبتی برای افزایش وزن بدن و بهبود ضریب تبدیل خوراک مشاهده شد. سطح ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تیمول یک اثر مثبت بر مصرف خوراک داشت (Lee et al., 2003a; 2004a) و Cross و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که هیچ تفاوتی در افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده‌ی جیره بر پایه‌ی کنجاله گندم-سویا با یا بدون پودر آویشن وجود ندارد. Cross و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که روغن آویشن در سطح ۱، ۳ و ۵

در آزمایش اخیر، مصرف بالاترین سطح آویشن (۰/۶ درصد) باعث بدتر شدن ضریب تبدیل در دوره‌ی آغازین گردید. این اولین گزارش در رابطه با تاثیر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن بر عملکرد و قدرت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی تحت تیمار نیترات سدیم در آب آشامیدنی است و هیچ گزارشی در این زمینه وجود ندارد. اما این افزایش ضریب تبدیل در پرندگان مصرف‌کننده‌ی بالاترین سطح ۰/۶ درصد عصاره‌ی آویشن ممکن است به خاطر مصرف خوراک بیشتر آن‌ها از لحاظ عددی باشد. بر اساس گزارش Toghiani و همکاران (۲۰۱۰) سطوح بالاتر آویشن در جیره (دروه‌ی آغازین) ممکن است اثر معکوسی بر جمعیت برخی میکروب‌های دستگاه گوارش از جمله لاکتوباسیلوس داشته باشد، که از تاثیر مثبت گیاه بر عملکرد جلوگیری نموده و پیامد آن تضعیف ضریب تبدیل است. در یک سری از گزارشات همچنین شواهدی از بدتر شدن ضریب تبدیل خوراک از طریق افزودن



بنابراین به نظر می‌رسد که اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی آویشن تحت تنش بروز پیدا می‌کند. مصرف ۲۷/۴ میلی‌گرم نیترات سدیم در آزمایش اخیر منجر به تنش اکسیداتیو نگردید (چون مصرف نیترات تغییری در میزان مالون دی آلدئید و همچنین فراسنجه‌های گازهای خون ایجاد نکرد) و به همین خاطر اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی آویشن بروز پیدا نکرد.

بعلاوه تغییری در سایر فراسنجه‌های خونی پروتئین کل و کراتینین و همچنین فراسنجه‌های مربوط به گازهای خون مشاهده نشد ولی اوره در اثر مصرف نیترات افزایش یافت. اوره‌ی پلاسما مفیدترین متغیر برای تشخیص نارسایی‌های کلیوی است (Kaneko et al., 1997). بنابراین به نظر می‌رسد که مصرف نیترات موجب آسیب‌های کلیوی را در انتهای دوره‌ی آزمایش شده است که سطح اوره‌ی خون را افزایش داده است ولی عصاره‌ی آویشن با جلوگیری از این آسیب‌ها، از افزایش سطح اوره‌ی خون جلوگیری کرده است. باید توجه داشت که اگرچه اوره به عنوان یک شاخص آسیب کلیوی افزایش یافته است ولی بروز این آسیب‌تأثیری بر عملکرد نداشته است. بنابراین این فرضیه تقویت می‌گردد که ایجاد این آسیب کلیوی در انتهای دوره‌ی آزمایش اتفاق افتاده است که تأثیری بر فراسنجه‌های عملکردی وارد نکرده است.

### نتیجه‌گیری کلی

به نظر می‌رسد که اگرچه مصرف ۲۷/۴ میلی‌گرم نیترات در آب آشامیدنی باعث ایجاد آسیب‌های کلیوی و در نتیجه افزایش اوره خون در جوجه‌های گوشتی در اواخر دوره آزمایش (۴۲ روزگی) می‌گردد ولی تغییری در عملکرد، فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدان خون و همچنین گازهای خونی ایجاد نمی‌کند که بیانگر عدم ایجاد مت‌هموگلوبینمیا و پراکسیداسیون است. اما مصرف عصاره‌ی آویشن در جوجه‌های تحت تیمار نیترات از طریق کاهش آسیب‌های کلیوی آخر دوره ناشی از نیترات باعث کاهش اوره خون می‌شود.

گرم در کیلوگرم هیچ تأثیری بر افزایش وزن بدن جوجه‌های گوشتی ندارد.

بر خلاف نتایج آزمایش اخیر، آویشن و اجزای آن در تعدادی از تحقیقات باعث بهبود بعضی از فراسنجه‌های عملکردی شده‌اند. Toghyani و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که ۵ گرم آویشن در کیلوگرم خوراک باعث افزایش معنی‌دار وزن بدن شد. سطح ۵ درصد مخلوط عصاره‌های گیاهی که شامل مرزنجوش، آویشن، دارچین و اوکالیتوس تمایل به بهبود ضریب تبدیل خوراکی نسبت به تیمار شاهد شد (Ulfah, 2006). Bülükbasi و همکاران (۲۰۰۶) با افزودن ۱۰۰ گرم بر کیلوگرم روغن خوراکی آویشن به جیره‌ی جوجه‌های گوشتی تأثیر مثبتی بر مصرف خوراک مشاهده کردند. Cross و همکاران (۲۰۰۷) افزایش وزن بدن را هنگام مصرف ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آویشن را در یک سطح در جیره‌ی جوجه‌های گوشتی مشاهده کردند اگرچه مصرف خوراک تقریباً ۱۰ درصد کاهش یافته بود. تفاوت نتایج مذکور با تحقیق اخیر احتمالاً ناشی از تفاوت در نحوه‌ی استفاده عصاره بوده است. در تحقیق اخیر، تأثیر عصاره در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از نیترات بررسی شد ولی بیشتر نتایج ذکر شده اثر عصاره یا گیاه بدون هیچ ترکیب دیگری بررسی شده است. تاکنون گزارش‌های زیادی در رابطه با اثرات آنتی‌اکسیدانی آویشن گزارش شده است. برای مثال، مصرف تیمول اکسیداسیون پلاسما‌ی خون و تشکیل مالون دی آلدئید را تا حدود ۴۳ درصد کاهش داده است (Lee, et al., 2001). همچنین Youdim and Deans (۱۹۹۹ و ۲۰۰۰) دریافتند که استفاده از روغن آویشن و آویشن خوراکی در تغذیه‌ی موش منجر به حفظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گردید. با توجه به اثرات ذکر شده آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی آویشن، بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی قابل انتظار بود ولی تغییری در هیچ‌کدام از فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی اسید اوریک و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی مشاهده نشد، اگرچه مالون دی آلدئید تمایل به معنی‌دار شدن داشت.

## منابع

- 1- Alçiçek, A., Bozkurt, M. and Çabuk, M. (2004). The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotics on broiler performance. *South African Journal of Animal Science*. 34: 217-222.
- 2- Atef, M., Abo-Norage, M.A., Hanafy, M.S. and Agag, A.E. (1991). Pharmacotoxicological aspects of nitrate and nitrite in domestic fowls. *British Poultry Science*. 32: 399-404.
- 3- Ayo, J.O., Minka, N.S. and Mamman, M. (2006). Excitability scores of goats administered ascorbic acid and transported during hot-dry conditions. *Journal of Veterinary Science*. 7: 127-131.
- 4- Barton, T.L., Hileman, L.H. and Nelson, T.S. (1986). A Survey of water quality on Arkansas broiler farms and meeting poultry health and Condemnation. University of Arkansas Fayetteville.
- 5- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G. and Karadogan, T. (2004). Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15: 169-172.
- 6- Bölükbaşı, Ş.C., Erhan, M.K. and Özkan, A. (2006). Effect of dietary thyme oil and vitamin E on growth, lipid oxidation, meat fatty acid composition and serum lipoproteins of broilers. *South African Journal of Animal Science*. 36: 189-196.
- 7- Carter, T.A. and Sneed, R.E. (1987). *Poultry Science and Technology Guide*. North Carolina State University, Raleigh.
- 8- Choi, S.Y., Chung, M.J. and Sung, N.J. (2002). Volatile N nitrosamine inhibition after intake of Korean green tea and Maesil extracts with an amine-rich diet in subjects ingesting nitrate. *Food and Chemical Toxicology*. 40: 949-957.
- 9- Chow, C.K. and Hong, C.B. (2002). Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate. *Toxicology*. 180: 195-207.
- 10- Chow, C.K. and Hong, Reese, M. and Gairola, C. (1984). Effect of dietary vitamin E on nitrite-treated rats. *Toxicological Letters*, 23: 109-117.
- 11- Cross, D.E., Acamovic, T., Deans, S.G. and McDevitt, R.M. (2002). The effect of dietary inclusions of herbs and their volatile oils on the performance of growing chickens. *British Poultry Science*. 43: 33-35.
- 12- Cross, D.E., McDevitt, R.M., Hillman, K. and Acamovic, T. (2007). The effects of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science*. 48: 496-506.
- 13- Cross, D.E., Svoboda, K., McDevitt, R.M. and Acamovic, T. (2003). The performance of chickens fed diets with or without thyme oil and enzymes. *British Poultry Science*. 44: 18-19.
- 14- Farag, R.S., Badei, A.Z.M.A., Hewedi, F.M. and El-Baroty, G.S.A. (1989). Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *Journal of American Oil Chemists Society*. 66: 792-799.
- 15- Jamroz, D., and Kamel, C. (2002). Plant extracts enhance broiler performance. *Journal of Animal Science*. 80: 41-41.
- 16- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. and Michael, L.B. (1997). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5th Ed. New York, Academic Press. pp: 857-879.
- 17- Kasyanenko, I.V., Pinchuk, V.G., Mysasoyedov, D.V., Pivnyuk, V.M. and Osipova, L.A. (1992). *Oncology*. Naukova Dumka, Kiev. 264 pp.

- 18- Kolahi, S., Hejazi, J., Mohtadinia, J., Jalili, M., Farzin, H., (2011). The evaluation of concurrent supplementation with vitamin E and omega-3 fatty acids on plasma lipid per oxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. *Internet Journal of Rheumatology*. 7:1cf7.
- 19- Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa, R. and Beynen, AC. (2003a). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British Poultry Science*. 44: 450-457.
- 20- Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., Frehner, M., Losa, R. and Beynen, A.C. (2003b). Dietary Carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*. 12: 394-399.
- 21- Lee, K.G. and Shibamoto, T. (2001). Inhibition malonaldehyde formation from blood plasma oxidation by aroma extracts and aroma components isolated from clove and eucalyptus. *Food and Chemical Toxicology*. 39: 1199-1204.
- 22- Lee, K.W., Everts, H., Kappert, H.J., van der Kuilen, J., Lemmers, A.G., Frehner, M., Beynen, A.C. (2004a). Growth performance, intestinal viscosity, fat digestibility and plasma cholesterol in broiler chickens fed a rye-containing diet without or with essential oil components. *International Journal of Poultry Science*. 3: 613-618.
- 23- Manassaram, D.M., Backer, L.C. and Moll, D.M. (2006). A review of nitrates in drinking water: Maternal exposure and adverse reproductive and developmental outcomes. *Environmental Health Perspective*. 114: 320-327.
- 24- Merino, Leonardo. (2008). Development and validation of a method for determination of residual nitrite/nitrate in foodstuffs and water after Zinc reduction. *Food Anal Methods*. 2: 212-220.
- 25- Marrett, L. E. and Sunde, M. L. (1968). The use of turkey poultts and chickens as test animals for nitrate and nitrite toxicity. *Poultry Science*. 68:511-519.
- 26- Phillips, W.E. (1971). Naturally occurring nitrate and nitrite in foods in relation to infant methaemoglobinaemia. *Food and Cosmetics Toxicology*. 9: 219-228.
- 27- Rocha, BS., Gago, B., Barbosa, RM., Lundberg, J.O., Radi, R. and Laranjinha, J. (2012). Intra gastric nitration by dietary nitrite: implications for modulation of protein and lipid signaling. *Free Radical Biology Medicine*. 52: 693-8.
- 28- Salvemini, D. and Cuzzocrea. (2002). Superoxide, superoxide dismutase and ischemic injury. *Current Opinion Investigational Drugs*. 3:886-895.
- 29- Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation (review). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 10-17.
- 30- Sharafzadeh, Sh., Alizadeh, O. and Vakili, M. (2011). Effect of Nitrogen Sources and Levels on essential oil components of thymus vulgaris L. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 5: 885-889.
- 31- Singhal, S., Gupta, R. and Gogle, A. (2001). Comparison of antioxidant efficacy of vitamin E, vitamin C, vitamin A and fruits in coronary heart diseases. A controlled trial. *Journal of the Association of Physicians, India*. 49: 327-331.
- 32- Slepchenko, V.N. and Rhnelnitskh, G.A. (1988) Toxic effects of dietary nitrate on semen production in bulls. *Veterinariya, Kiev USSR*. 63:63-67.
- 33- Suteu, R., Altuntas, I., Buyukvanli, B., Akturk, O., Koylu, H. and Delibas, N. (2007). The effects of diazozin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rats erythrocytes: role of vitamins E and C. *Toxicology and Industrial Health*. 23: 13-17.

