تأثیر افزودن مکمل‌های آلی و نانو مس بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، کلسترول زرده و فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخم‌گذار

پیام باغبان کنعانی [۱]، حسین جانمحمدی [۲*]، اکبر تقی‌زاده [۲]، سلطانعلی محبوب [۳] و سیدعلی میرقلنج [۴]

تاریخ دریافت: ۹۷/٤/۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۲٤

[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۲] استاد گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تبریز
[۳] استاد گروه تغذیه و رژیم‌درمانی، دانشکده‌ی تغذیه، دانشگاه تبریز
[٤] استادیار گروه علوم دامی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه ارومیه
*مسئول مکاتبه: E-mail: Mehrzad.hossein@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: از جمله وظایف فیزیولوژیکی مس توانایی کاهش کلسترول تخم‌مرغ می‌باشد. **هدف**: این آزمایش به منظور مطالعه اثر افزودن سطوح مختلف مکمل‌های آلی و نانو مس بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، کلسترول زرده و فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخمگذارانجام شد. **روش کار**: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از دو سطح بیوپلکس مس (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و دو سطح نانو مس (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و جیره پایه (سطح صفر) با تعداد ۲۲٤ قطعه مرغ تخمگذار لگهورن سویه تجاری های-لاین W-36 در سن ۵۵ هفتگی با ۵ جیره غذایی آزمایشی، ٤ تکرار و در هر تکرار از ۸ قطعه مرغ (دو قفس چهارتایی مجاور هم) استفاده شد. **نتایج**: مصرف خوراک تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). سطوح مختلف تیمارهای آزمایشی باعث افزایش تولید تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد گردید ($P<۰/۰۱$). پرندگانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیوپلکس و نانو مس تغذیه شدند به طور معنی‌داری ضریب تبدیل خوراک پایین‌تری نسبت به جیره شاهد داشتند ($P<۰/۰۵$). استفاده از منابع و سطوح مختلف مس اثرات معنی‌داری بر صفات کیفی تخم‌مرغ نداشتند ($P>۰/۰۵$). تمام تیمارهای آزمایشی منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول زرده ($P>۰/۰۱$) و پلاسما ($P>۰/۰۵$) گردیدند. همچنین، پارامترهای بیوشیمیایی خون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزودن سطوح و منابع مختلف مس به جیره قرار نگرفت ($P>۰/۰۵$). **نتیجه‌گیری نهایی**: نتایج این آزمایش نشان داد که مکمل‌سازی جیره مرغ‌های تخم‌گذار با اشکال نانو و بیوپلکس مس در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم علاوه بر افزایش درصد تولید تخم‌مرغ، منجر به کاهش کلسترول زرده به مقدار ۱۷/۳٤ درصد و کلسترول پلاسما به مقدار ۱۹/۰۵ درصد در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد.

واژگان کلیدی: بیوپلکس مس، عملکرد، کلسترول زرده تخم‌مرغ، مرغان تخمگذار، نانو مس

مقدمه

مواد معدنی کم‌مصرف اعمال فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی خاصی را در بدن انجام می‌دهند. نقش عمده آنها در بسیاری از سیستم‌های آنزیمی و هورمونی به عنوان کوفاکتور می‌باشد. از بین این عناصر، به دلیل سرعت رشد بالای پرنده و میزان جذب پایین از مجرای روده‌ای، عنصر مس اهمیت زیادی دارد (اسویاتکیویچ و همکاران ۲۰۱٤). نشان داده شده است که تنها حدود ۲۵ تا ۶۰ درصد از مس موجود در جیره غذایی قابلیت جذب شدن را دارا می‌باشد که این تا

حدودی تحت تأثیر رقابت در جذب با سایر فلزات و یا عوامل کمپلکس کننده موجود در جیره می‌باشد (اسویاتکیویچ و همکاران ۲۰۱٤). در حیوانات تک معده-ای، مس به مقدار زیادی در بخش آغازین روده‌ی باریک که pH شیرابه‌ی گوارشی هم‌چنان اسیدی است، جذب می‌شود اما در کل، جذب مس بسیار اندک است و در شرایط طبیعی بیش از ۸۱ درصد از مس خورده شده از راه مدفوع دفع می‌شود. بنابراین، افزودن مقدار زیادی مس به جیره، سبب افزایش دفع مس از مدفوع و آلودگی زیست محیطی می‌شود (استاناچو و همکاران ۲۰۱٤). از دهه ۱۹۵۰ تا کنون برخی مواد معدنی کم‌مصرف از جمله مس در جیره غذایی طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد. ابتدا این عناصر از طریق ترکیبات معدنی (عمدتاً اکسیدها و سولفات‌ها) تأمین می‌گردید و به دلیل ارزان بودن آنها، تأثیر چندانی در قیمت جیره نمی‌گذاشت. در دهه ۱۹٦۰، لاین‌های جدید و پرتولید مرغ و دیگر حیوانات مزرعه‌ای به بازار عرضه شد که نیازهای غذایی آنها به تمامی مواد مغذی و از جمله عناصر کم‌مصرف افزایش یافته بود. در دهه‌های آخر قرن گذشته عناصر معدنی کم‌مصرف به صورت قفل‌شده با مواد آلی و به نام (کیلات‌ها) و یا (بیوپلکس) به بازار عرضه گردید که از برخی جهات بهتر از منابع معدنی اولیه بود. در این ترکیبات عناصر سرعت جذب بالایی در روده دارند و امکان کاهش سطح استاندارد در جیره را فراهم می‌سازند، بدون اینکه اثری بر خصوصیات تولیدی مرغ‌ها داشته باشند وآلودگی‌های زیست محیطی ناشی از این عناصر را کاهش می‌دهند (اسویاتکیویچ و همکاران ۲۰۱٤). منابع نانو نیز اشکال جدیدی از عناصر هستند که به تازگی به بازار عرضه شده‌اند و به دلیل ویژگی‌هایی از جمله سطح فعالیت بالا، مراکز سطحی فعال بیشمار، کارایی کاتالیکی بالا و جذب بالا و سمیت پایین، اهمیت زیادی یافته‌اند. اگر اندازه‌ی ملکول‌های مس به اندازه‌ی ذره‌های نانو کاهش یابد، ملکول‌ها به آسانی می‌توانند از مخاط روده جذب شوند و دفع آنها از راه مدفوع و به دنبال آن، آلودگی زیست محیطی به مقدار زیادی کاهش می‌یابد. بنابراین، می-توان جذب مس را با استفاده از فناوری نانو افزایش داد. مس مازاد بر نیاز در جیره با افزایش غلظت مس کبد، باعث کاهش غلظت شکل احیاء گلوتاتیون کبدی و تغییر نسبت شکل گلوتاتیون احیاء به گلوتاتیون اکسید می‌گردد. از آنجایی که آنزیم بتا- هیدروکسی بتا- متیل‌گلوتاریل‌کوآنزیم‌آردوکتاز جهت فعالیت خود به گروه سولفیدریل گلوتاتیون نیاز دارد، با افزایش غلظت مس در جیره و نهایتاً افزایش غلظت مس در کبد، نسبت شکل گلوتاتیون احیاء به اکسید کاهش یافته و لذا بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیمآ به موالونات تبدیل نگردیده و جریان کربن در مسیر کلسترول متوقف گردیده و سنتز کلسترول کاهش می‌یابد. همچنین آنزیم ۷-آلفا هیدروکسیلاز کبدی آغازگر و محدود کننده مسیر بیوسنتز اسیدهای صفراوی از کلسترول می‌باشد. براساس مطالعات انجام گرفته مس مازاد بر نیاز در جیره از طریق تغییر فعالیت آنزیم ۷-آلفا هیدروکسیلاز کبدی، کنترل خود را بر تنظیم فعالیت آنزیم فوق بواسطه دردسترس بودن مقدار سوبسترا اعمال می‌نماید (کونجوفکا و همکاران ۲۰۰۷). در طول چهار دهه گذشته، تلاش‌های تحقیقاتی به سمت کاهش محتوی کلسترول تخم‌مرغ با محوریت انتخاب ژنتیکی و یا تغییر جیره غذایی مرغ تخمگذار با مواد مغذی مختلف، عوامل غیرمغذی و یا مواد دارویی صورت گرفته است. میزان مصرف کلسترول یک فرد سالم که سازمان جهانی سلامت اعلام کرده است نباید بیش از ۳۰۰ میلی‌گرم در روز باشد (الکین ۲۰۰۷). تخم‌مرغ معمولاً کلسترول بالایی به خاطر نقش‌شان در حفظ توسعه جنینی دارند (الکین ۲۰۰۷). یک تخم‌مرغ تقریباً حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم کلسترول می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش آن بدون اثرات مضر بر پارامترهای تولیدی دیگر خیلی سخت باشد. هر چند بیان شده که اگر محتوی کلسترول تخم‌مرغ بیش از ۳۰ درصد توسط دستکاری جیره‌ای کاهش یابد، تولید تخم‌مرغ کاهش می‌یابد (الکین ۲۰۰۷). شواهد نشان می‌دهد که به ازای هر ۱ درصد

کاهش در کلسترول پلاسما با استفاده از رژیم غذایی یا دارو، کاهش ۲ درصدی در رابطه با بیماری قلبی و عروقی مشاهده می‌شود. همچنین در بسیاری از حیوانات، کلسترول مورد کاتابولیسم قرار گرفته و به صورت اسیدهای صفراوی به مدفوع دفع می‌گردد اما مرغ‌های تخمگذار مقدار زیادی از کلسترول را به جای مدفوع به تخم‌مرغ انتقال می‌دهد (هارگیس ۱۹۹۸). پکل و آلپ (۲۰۱۱) در آزمایشی روی مرغان تخمگذار با مکمل کردن سطوح ۰ و ۲۵۰ قسمت در میلیون مس از منابع سولفات، لایزینات و پروتئینات مس، نشان دادند که منابع مختلف مس، دارای اثرات یکسانی بر وزن بدن، توده تخم، کلسترول زرده تخم و پلاسما، HDL وتری‌گلیسیرید بودند. سطح ۲۵۰ قسمت در میلیون سولفات مس تولید تخم را بهبود بخشید، اما وزن تخم و مصرف خوراک را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. ازآنجاییکه تولید تخم‌مرغ‌هایی با کلسترول کمتر درافزایش مصرف سرانهٔ تخم‌مرغ در جامعه مؤثر است، از این رو در این تحقیق، اثر سطوح مختلف مس آلی (بیوپلکس) و نانو بر عملکرد، کیفیت تخم‌مرغ، کلسترول زرده و فراسنجه‌های خونی مرغ‌های تخمگذار بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۲۲٤ قطعه مرغ تخمگذار لگهورن سویه تجاری های-لاین W-36 در سن ۵۵ هفتگی استفاده شد. این تحقیق به مدت ۷۰ روز شامل ۲ هفته دوره عادت‌دهی و ۸ هفته دوره رکورد برداری در مرغ-های تخمگذار تجاری در سیستم قفس اجرا شد. طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی بود که شامل دو سطح (۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع نانو مس و دو سطح (۷۵ و۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) از منبع بیوپلکس مس جیره و جیره پایه بود. هر تیمار شامل ٤ تکرار بود و در هر تکرار از ۸ قطعه مرغ (دو قفس چهارتایی مجاور هم) استفاده شد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: جیره شاهد بر پایه ذرت و کنجاله سویا، جیره پایه بعلاوه ۷۵ و۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بیوپلکس مس (Alltech Inc., Nicholasville, KY)، جیره پایه بعلاوه ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو مس (FRAmelco, The Netherlands)، میزان مس در جیره پایه ۱۲/۸۵ میلی گرم در کیلوگرم محاسبه شد، اما میزان آنالیز شده مس در جیره پایه ۱۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر اساس ماده خشک بود. در ابتدا تعیین میزان مس با روش اسپکتروفوتومتری جذب اتمی انجام گردید. برای این منظور ٤ تکرار ۱ گرمی برداشته شده و در ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۱۲ ساعت خشک و در کوره با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱٦ ساعت سوزانده شد. هضم نمونه‌ها در هیدروکلریک اسید و صاف کردن آن از طریق کاغذ واتمن شماره ٤۲(بدون خاکستر) انجام شده و بعد از رساندن به حجم مورد نیاز با آب مقطر دوبار تقطیر شده در آزمایشگاه گروه خاکشناسی دانشگاه تبریز غلظت عنصر با دستگاه جذب اتمی (Shimadzu, Model AA670, Japan) با طول موج ۲۱۳ قرائت گردید (جدول ۱). جیره‌ها بر اساس احتیاجات ذکر شده در راهنمای پرورش مرغ تخمگذار های-لاین W-36 و با استفاده از نرم افزار UFFDA تنظیم گردید. همه جیره‌ها از نظر محتوی انرژی قابل متابولیسم، پروتئین خام و سایر مواد مغذی یکسان بودند. مصرف آب به صورت اختیاری و غذا (۱۰۰ گرم به ازای هر مرغ در روز) و برنامه نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی اعمال شد. صفات عملکردی گرم تخم‌مرغ تولیدی، وزن تخم‌مرغ، درصد تخمگذاری، میزان غذای مصرفی و محاسبهٔ ضریب تبدیل خوراک (خوراک/ توده تخم‌مرغ) به صورت هفتگی محاسبه شد. صفات کیفی داخلی تخم‌مرغ (ضخامت پوسته، استحکام پوسته، واحد هاو و شاخص زرده) در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. برای بررسی استحکام پوسته تخم‌مرغ‌ها از دستگاه مقاومت سنج (Model HT-8116 of Hung Ta instrument Co.,

Ltd Taiwan) استفاده شد، که در این روش تخم‌مرغ‌ها از قسمت استوایی بین دو صفحه موازی دستگاه قرار گرفته و نیرو از طریق آن به تخم‌مرغ‌ها وارد می‌شود و در لحظه شکسته شدن پوسته تخم‌مرغ، نیروی وارد شده ثبت می‌شد. برای اندازه‌گیری واحد هاو از فرمول زیر استفاده شد:

(۱۰۰ Log(H+ ۷/۵۷ – ۱/۷W$^{۰/۳۷}$)= واحد هاو

که در این فرمول H عبارت است از ارتفاع سفیده غلیظ بر حسب میلی‌متر و W برابر است با وزن تخم‌مرغ بر حسب گرم. برای اندازه‌گیری ارتفاع سفیده، از دستگاه ارتفاع سنج استاندارد استفاده شد. بطوری که ابتدا تخم مرغ ها بر روی یک صفحه صاف شکسته شده و ارتفاع سفیده در سه محل چسبیده به زرده، قسمت میانی و انتهای سفیده غلیظ اندازه‌گیری گردید و میانگین آنها به عنوان ارتفاع سفیده در نظر گرفته شد. سپس با در نظر گرفتن وزن تخم‌مرغ و ارتفاع سفیده و با قرار دادن آنها در فرمول بالا، واحد هاو برای هر یک از تخم مرغ‌ها محاسبه شد. ضخامت پوسته تخم‌مرغ‌ها با استفاده از ریز سنج با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر در سه قسمت نوک، وسط و انتهای پهن پوسته تخم‌مرغ، اندازه‌گیری گردید و میانگین آنها به عنوان ضخامت نهایی پوسته هر تخم-مرغ در نظر گرفته شد. برای محاسبه شاخص زرده از فرمول زیر استفاده شد: شاخص زرده= (ارتفاع زرده/ قطر زرده)× ۱۰۰

برای تعیین pH سفیده، ابتدا pH متر به وسیله بافر ۷ و ۱۱ کالیبره و سفیده تا ۱۰ برابر رقیق شد و سپس به وسیله همزن برقی پنج دقیقه به هم زده شد تا یکنواخت شود، پس از، از بین رفتن کف ایجاد شده در بالای سفیده، سنسور pH متر در داخل آن قرار گرفته و pH آن گزارش شد. pH زرده نیز مانند pH سفیده اندازه گرفته شد. برای اندازه‌گیری کلسترول تخم‌مرغ، از هر تکرار تعداد ٦ عدد تخم‌مرغ به صورت تصادفی در پایان دوره آزمایشی (٦٣ هفتگی) انتخاب شد. برای آنالیز کلسترول، تخم‌مرغ در آب جوش به مدت ٥ دقیقه قرار داده شد. پس از سرد شدن در دمای اتاق، زرده از سفیده جدا شده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شد. سپس زرده مورد توزین قرار گرفت. پس از آن با استفاده از یک همزن شیشه‌ای، زرده به طور کامل به‌هم زده شد تا ماده‌ای یکنواخت حاصل شود. آنگاه یک گرم از زردۀ یکنواخت شده، با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت۰/۰۰۰۱ گرم توزین شد و با افزودن ۱۵ میلی‌لیتر محلول ۲:۱ کلروفرم – متانول (دو حجم کلروفرم، یک حجم متانول) و ۵ میلی‌لیتر آب، به زردۀ جدا شده و سانتریفوژ کردن (۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) آن و سپس جدا نمودن فاز آبی (لایۀ بالایی) و فاز جامد (لایۀ میانی) عصارۀ زرده استخراج گردید (فولچ و همکاران ۱۹۵۷). سپس ۰/۲۵ میلی‌لیتر از نمونه استخراج شده با توجه به روش آبل و همکاران (۱۹۵۲) صابونی گردید. کلسترول زرده، با افزودن ۳ میل لیتر معرف (برای تهیه این معرف ۰/۵ گرم کلرور فریک، به یک لیتر اسید استیک گلسیال خالص اضافه شد)، ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به ۲ میکرولیتر عصارۀ زرده و مقایسه آن با استاندارد تعیین شد. لازم به ذکر است که برای تهیه استاندارد، در این حالت باید ۲۰۰ میلی‌گرم کلسترول به ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک اضافه شود. کلسترول نمونه‌های صابونی با استفاده از روش رنگ سنجی زلاتکیس و همکاران (۱۹۵۳) تعیین گردید. محاسبه کلسترول کل تخم‌مرغ با استفاده از رابطه زیر انجام گرفت:

کلسترول تخم‌مرغ (میلی‌گرم) = وزن زرده × مقدار کلسترول در هر گرم زرده (میلی‌گرم).

برای بررسی پارامترهای بیوشمیایی خون نیز در انتهای دوره از هر تیمار ٤ قطعه مرغ پس از خونگیری جهت اندازه‌گیری میزان کلسترول پلاسما، کلسترول لیپوپروتئین‌های پلاسما (HDL-C و LDL-C) و شاخص آتروژنیک (LDL/HDL)، آنزیم‌های آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) با بهره‌گیری از کیت‌های استاندارد شرکت

[1] Aspartate aminotransferase

پارس آزمون (تهران، ایران) انجام پذیرفت. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS نسخه۹/۱ و رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند، مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی کرامر انجام و سطح معنی‌داری نیز ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. مدل آماری به شرح زیر می‌باشد:

$Y_{ij}=\mu+T_i+e_{ij}$

Y_{ij}= مقدار هر مشاهده، μ= میانگین مشاهدات، T_i = اثر هر تیمار، e_{ij}= اثر خطای آزمایشی

Table 1- Composition of experimental diets

Ingredients,%	Control	75 mg/kg Bioplex Cu	150 mg/kg Bioplex Cu	75 mg/kg Nano Cu	150 mg/kg Nano Cu
Corn	61.45	61.39	61.35	61.40	61.35
Soybean meal (44%)	23.56	23.58	23.62	23.58	23.60
Oyster Shell	9.67	9.67	9.67	9.67	9.67
Sunflower oil	2.41	2.45	2.49	2.44	2.47
Dicalcium phosphate	1.88	1.88	1.88	1.88	1.88
Salt	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Mineral Premix [1]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Vitamin Premix [2]	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
DL-Methionine	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
L-Threonine	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Calculated nutrients (%)					
AME_n (Kcal/Kg)	2830	2830	2830	2830	2830
Crude protein	15.25	15.25	15.25	15.25	15.25
Ether Extract	5.00	5.02	5.06	5.02	5.04
Crude Fiber	2.78	2.78	2.78	2.78	2.78
Calcium	4.35	4.35	4.35	4.35	4.35
Available phosphorus	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
DL- methionine	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
Hcl-Lysine	0.78	0.78	0.78	0.78	0.78
Copper (analysed) (mg/kg)	11.00	85.00	159.00	86.00	159.00

[1]Provided per kg of ration; copper 10mg (Cupric sulfate), iron 50 mg (ferrous sulfate), manganese 100 mg (manganese oxide), 70 mg zinc (zinc sulfate), selenium 0.3 mg (sodium selenite) and iodine 1.0 mg (calcium iodate).

[2] Provided per kg of ration; retinol 8000 IU, cholecaciferol 2000 IU, tocopherol 20.0 IU, menadione 3.0 mg, thiamine 1.5 mg, riboflavin 4 mg, pyridoxine 0.12mg, cyanocobalamin 0.015 mg, niacin 50mg, Ca pantothenate 12mg, folic acid 1.00 mg, Choline 300 mg and biotin 0.1 mg.

نتایج

نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد مرغان تخمگذار در جدول ۲ ارائه گردیده است. مصرف خوراک تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت ($P>0/05$). سطوح مختلف تیمارهای آزمایشی باعث افزایش تولید تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد گردید ($P<0/01$). پرندگانی که با جیره حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیوپلکس و نانو مس تغذیه شدند به طور معنی‌داری ضریب تبدیل خوراک پایین‌تری نسبت به جیره شاهد داشتند ($P<0/05$). جدول ۳ اثر تیمارهای آزمایشی بر صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخمگذار را نشان می‌دهد. استفاده از منابع و سطوح مختلف مس اثرات معنی‌داری بر صفات کیفی تخم‌مرغ نداشتند($P>0/05$). تاثیر بیوپلکس و نانو مس بر وزن زرده، کلسترول زرده تخم‌مرغ و پلاسما در جدول ٤ ارائه شده است. تمام تیمارهای آزمایشی منجر به کاهش معنی‌دار کلسترول چه در زرده($P>0/01$) و یا در پلاسما($P>0/05$) گردیدند. نتایج مربوط به اثر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی مرغان تخمگذار در جدول ۵ نشان داده شده است. پارامترهای

بیوشیمیایی خون به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر افزودن سطوح و منابع مختلف مس به جیره قرار نگرفت(P>۰/۰۵).

Table 2- The effects of bioplex and nano copper on performance of laying hens

	Copper (mg/kg)	Feed intake (g/d)	Egg production (%)	Egg weight (g)	Egg mass (g)	FCR
Basal	0	110.01	81.45[b]	60.17	49.01	2.24[a]
Copper-Bioplex	75	109.45	83.00[a]	60.80	50.45	2.16[ab]
Copper Bioplex	150	109.22	84.06[a]	60.80	51.12	2.13[b]
Nano copper	75	109.15	83.01[a]	60.36	50.11	2.17[ab]
Nano copper	150	109.12	84.20[a]	60.96	51.33	2.12[b]
SEM		0.25	0.63	0.50	0.45	0.02
P- value		0.34	0.003	0.94	0.09	0.05

Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Table 3- The effects of bioplex and nano copper on egg quality of laying hens

	Copper (mg/kg)	Eggshell thickness (mm)	Eggshell strength (kg/cm^2)	pH White	pH Yolk	Yolk index (%)
Basal diet	0	0.29	3.18	9.15	6.64	37.56
CopperBioplex	75	0.31	3.19	9.16	6.64	37.60
CopperBioplex	150	0.31	3.20	9.16	6.65	37.60
Nano copper	75	0.31	3.20	9.17	6.63	37.62
Nano copper	150	0.31	3.21	9.17	6.66	37.68
SEM		0.008	0.10	0.26	0.32	1.54
P- value		0.51	0.94	0.86	0.45	0.98

Table 4- The effects of bioplex and nano copper on yolk weight, egg yolk and plasma cholesterol of laying hens

	Copper (mg/kg)	Yolk weight (g)	Yolk cholesterol (mg/g of yolk)	Cholesterol (mg/dL)
Basal diet	0	17.42	13.32[a]	129.44[a]
Copper Bioplex	75	17.65	11.74[b]	111.29[b]
CopperBioplex	150	17.61	11.10[b]	108.85[b]
Nano copper	75	17.49	11.44[b]	108.66[b]
Nano copper	150	17.67	11.01[b]	104.78[b]
SEM		0.42	0.31	4.18
P- value		0.70	0.005	0.03

Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$).

Table 4- The effects of bioplex and nano copper on plasma parameters of laying hens

	Copper (mg/kg)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)	Atherogenic index
Basal diet	0	94.77	42.34	10.05	314.65	2.24
Copper Bioplex	75	94.02	43.59	8.74	267.91	2.16
Copper Bioplex	150	94.09	43.72	8.60	266.92	2.15
Nano copper	75	94.27	44.86	8.63	263.86	2.10
Nano copper	150	93.69	46.34	8.44	257.45	2.02
SEM		0.91	1.08	0.52	0.27	0.05
P- value		0.76	0.32	0.32	0.69	0.23

بحث

بنابر نتایج آزمایش (جدول۲)، سطوح مختلف تیمارهای آزمایشی باعث افزایش تولید تخم‌مرغ نسبت به گروه شاهد گردیدند. همچنین سطوح بالاتر نانو و کیلات مس منجر به کاهش ضریب تبدیل خوراک گردید. مطابق با نتایج این پژوهش، لیم و پیک (۲۰۰۶) با افزودن ۱۰۰ میلی‌گرم مس مازاد به به جیره مرغان تخمگذار، تفاوت در وزن و تولید تخم‌مرغ را گزارش نمودند، به نحوی که گروه تغذیه شده از منبع متیونین- مس از تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ بالاتری برخوردار بودند. گوچلو و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده‌اند که افزودن سطوح مختلف مس مازاد (۰، ۱۵۰، ۳۰۰ و ٤٥٠ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم جیره) تأمین شده از منبع پروتئینات مس به جیره مرغان تخمگذار، موجب افزایش تولید تخم گردید، ولی افزایش بیشتر سطح مس مصرفی به ٤٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش تولید تخم گردید. پکل و آلپ (۲۰۱۱) گزارش کردند افزودن ۲۵۰ قسمت در میلیون سولفات مس به جیره مرغان تخم‌گذار تولید تخم بهبود می یابد، اما وزن تخم و مصرف خوراک را نسبت به گروه کنترل کاهش می یابد. همچنین ایدوو و همکاران (۲۰۰٦) گزارش کرده‌اند که افزودن مس مازاد تأمین شده از دو منبع سولفات مس پنتاهیدرات و پروتئینات مس به جیره مرغان تخمگذار(۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) موجب افزایش میزان تولید تخم روزانه گردید. آنزیم‌های وابسته به مس، سیتوکروم c اکسیداز، نقش ضروری در تولید انرژی بازی می‌کنند. با کاتالیز کردن اکسیژن مولکولی (O_2) به آب (H_2O) سیتوکروم C اکسیداز، یک گرادیان الکتریکی تولید می‌کند که بوسیله میتوکندری‌ها برای ایجاد مولکول حیاتی ذخیره کننده انرژی (ATP) استفاده می‌شود، به این ترتیب مس با فراهم کردن انرژی مورد نیاز برای فرایند تخمگذاری منجر به افزایش درصد تولید تخم‌مرغ می‌گردد (کریمی و همکاران ۲۰۱۱، وانگ و همکاران ۲۰۱۰، لیو و همکاران ۲۰۰۵). سطوح و منابع مختلف مس منجر به کاهش کلسترول زرده تخم‌مرغ و پلاسما در این پژوهش گردید. گزارشات زیادی مبنی بر اثرگذاری مس در متابولیسم لیپیدها وجود دارد. غلظت بالای مس در جیره، با افزایش غلظت مس در کبد، باعث کاهش غلظت گلوتاتیون احیاء شده کبدی و همچنین تغییر نسبت گلوتاتیون احیاء شده به گلوتاتیون اکسید شده می‌گردد (شاهین و همکاران ۲۰۰۹). گلوتاتیون از طریق اثر بر فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم‌آ ردوکتاز، بیوسنتز کلسترول را تنظیم می‌کند (کونجوفکا و همکاران ۲۰۰۷). با توجه به اهمیت کاهش سطح کلسترول تخم‌مرغ در طی سالیان گذشته، تحقیقات فراوانی در رابطه با نقش مس مازاد در جیره بر عملکرد مرغان تخمگذار و کاهش سطح کلسترول تخم‌مرغ انجام گرفته است. گوچلو و همکاران (۲۰۰۸) نشان داده‌اند که افزودن سطوح ۳۰۰ و ٤٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم مس مازاد تأمین شده از منبع پروتئینات مس به جیره مرغان تخمگذار، میزان کلسترول زرده تخم‌مرغ را کاهش داد. با توجه به اینکه بین بیماری تصلب شرایین و افزایش چربی‌های سرم در انسان ارتباط نزدیکی وجود دارد، کاهش در میزان کلسترول منابع پروتئینی مانند گوشت، شیر و بویژه تخم‌مرغ بسیار حائز اهمیت است. طبق مطالعات انجام گرفته، استفاده از سطوح مازاد بر نیاز مس در جیره موجب تغییر در متابولیسم لیپیدها می‌گردد (چاودوری و همکاران ۲۰۰۲، پستی و باکالی ۱۹۹٦). سطوح نسبتاً بالای مس باعث کاهش محتوی کلسترول در زرده می‌شود. کلسترول ترکیب ۲۷ کربنه می‌باشد که کربن‌های آن طی یک مسیر بیوسنتتیک پیچیده از یک پیش‌ساز استات تأمین می‌گردد. طی اولین مرحله در بیوسنتز کلسترول، ترکیب واسط موالونات تولید می‌گردد، بطوریکه ابتدا دو مولکول استیل‌کوآنزیم‌آ توسط آنزیم تیولاز کندانسه گردیده و استواستیل‌کوآنزیم‌آ تولید می‌گردد. در ادامه مسیر با کندانسیون استو استیل کوآنزیم‌آ با سومین مولکول استیل‌کوآنزیم‌آ که توسط آنزیم بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیم‌آ سنتتاز کاتالیز می‌گردد، ترکیب شش کربنه بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل

کوآنزیمآ تولید می‌گردد. مرحله محدود کننده سرعت مسیر بیوسنتتیک کلسترول، احیاء بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیمآ به موالونات می‌باشد که توسط آنزیم بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیمآ ردوکتاز کاتالیز می‌گردد (موندال و همکاران ۲۰۰۷). بر اساس مطالعات أخیر، شکل احیاء گلوتاتیون، بعنوان مهمترین منبع داخل سلولی گروه تیول در بدن در فعال شدن آنزیم بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیمآ ردوکتاز کبدی تأثیرگذار است (روئیتلمن و شچتر ۱۹۸٤). مس مازاد بر نیاز در جیره با افزایش غلظت مس کبد، باعث کاهش غلظت شکل احیاء گلوتاتیون کبدی و تغییر نسبت شکل گلوتاتیون احیاء به گلوتاتیون اکسید می‌گردد. از آنجایی که آنزیم بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز جهت فعالیت خود به گروه سولفیدریل گلوتاتیون نیاز دارد، با افزایش غلظت مس در جیره و نهایتاً افزایش غلظت مس در کبد، نسبت شکل گلوتاتیون احیاء به اکسید کاهش یافته و لذا بتا- هیدروکسی بتا- متیل گلوتاریل کوآنزیمآ به موالونات تبدیل نگردیده و جریان کربن در مسیر کلسترول متوقف گردیده و سنتز کلسترول کاهش می‌یابد (کاتز و همکاران ۱۹۸٤). همچنین، آنزیم ۷-آلفا هیدروکسیلاز کبدی آنزیم آغازگر و محدود کننده مسیر بیوسنتز اسیدهای صفراوی از کلسترول می‌باشد. براساس مطالعات انجام گرفته مس مازاد بر نیاز در جیره از طریق تغییر فعالیت آنزیم ۷- آلفا هیدروکسیلاز کبدی، کنترل خود را بر تنظیم فعالیت آنزیم فوق بواسطه دردسترس بودن مقدار سوبسترا اعمال می‌نماید (هورتون و همکاران ۱۹۹٤). در سال‌های أخیر تأثیر مکمل نانو مس در جیره مرغان تخمگذار مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین، هنوز هیچ منبعی برای مقایسه نتایج مربوط به عملکرد و برخی از ویژگی‌های کیفی تخم‌مرغ مانند کلسترول از مطالعه حاضر با یافته‌های گزارش شده توسط محققان دیگر وجود ندارد. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که مکمل‌سازی جیره با اشکال نانو و کیلات مس در سطح ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با بهبود ضریب تبدیل خوراک موجب افزایش درصد تولید تخم‌مرغ شده و همچنین به کاهش کلسترول زرده و پلاسمای مرغان تخمگذار نیز منجر می‌گردد.

منابع مورد استفاده

Chowdhury SD, Smith TK, 2002. Effects of dietary garlic on cholesterol metabolism in laying hens. Poultry Science 81:1856-1862.

Elkin RG, Rogler JC, 1990. Reduction of the cholesterol content of eggs by the oral administration of lovastatin to laying hens. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38:1635-1641.

Güçlü BK, Kara K, Beyaz L, Uyanik F, Eren M, Atasever A, 2008. Influence of dietary copper proteinate on performance, selected biochemical parameters, lipid peroxidation, liver, and egg copper content in laying hens. Biological Trace Element Research 125:160-169.

Hargis PS, 1988. Modifying egg yolk cholesterol in the domestic fowl-a review. World's Poultry Science Journal 44:17-29.

Horton JD, Cuthbert JA, Spady DK, 1994. Regulation of hepatic 7 alpha-hydroxylase expression by dietary psyllium in the hamster. The Journal of Clinical Investigation 93:2084-2092.

Idowu OM, Laniyan TF, Kuye OA, Oladele-Ojo VO, Eruvbetine D, 2006. Effect of copper salts on performance, cholesterol, residues in liver, eggs and excreta of laying hens. Archivos de Zootecnia 55:212-220.

Jegede AV, Oso AO, Fafiolu AO, Sobayo RA, Idowu OMO, Oduguwa OO, 2015. Effect of dietary copper on performance, serum and egg yolk cholesterol and copper residues in yolk of laying chickens. Slovak Journal of Animal Science 48: 29–36.

Karimi A, Sadeghi G, Vaziry A, 2011. The effect of copper in excess of the requirement during the starter period on subsequent performance of broiler chicks. Journal of Applied Poultry Research. 20:203-209.
Katz JM, Skinner SJ, Wilson T, Gray DH, 1984. Inhibition of prostaglandin action and bone resorption by copper. Annals of the Rheumatic Diseases 43:841-?
Kimiaiitalab MV, Ghazi S, Mirzaii S, 2013. Effect of different levels of copper and chicory on yolk cholesterol and performance of laying hens. Journal of Animal Production 15:11-20 (In Persian).
Konjufca VH, Pesti GM, Bakalli RI, 1997. Modulation of cholesterol levels in broiler meat by dietary garlic and copper. Poultry Science 76:1264-1271.
Kritchevsky SB, 2004. A review of scientific research and recommendations regarding eggs. The Journal of the American College of Nutrition 23:596–600.
Leeson S, 2009. Copper metabolism and dietary needs. World's Poultry Science Journal 65: 65353–366.
Lim HS, Paik IK, 2006. Effects of dietary supplementation of copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast in laying hens. Asian Australasian Journal of Animal Sciences 19:1174-?.
Liu Z, Bryant MM, Roland Sr DA, 2005. Layer performance and phytase retention as influenced by copper sulfate pentahydrate and tribasic copper chloride. Journal of Applied Poultry Research 14:499-505.
Mondal MK, Das TK, Biswas P, Samanta CC, Bairagi B, 2007. Influence of dietary inorganic and organic copper salt and level of soybean oil on plasma lipids, metabolites and mineral balance of broiler chickens. Animal Feed Science and Technology 139:212-233.
Pekel AY, Alp M, 2011. Effects of different dietary copper sources on laying hen performance and egg yolk cholesterol. Journal of Applied Poultry Research 20:506-513.
Pesti GM, Bakalli RI, 1998. Studies on the effect of feeding cupric sulfate pentahydrate to laying hens on egg cholesterol content. Poultry Science 77:1540-1545.
Roitelman J, Shechter I, 1984. Regulation of rat liver 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. Evidence for thiol-dependent allosteric modulation of enzyme activity. Journal of Biological Chemistry 259:870-877.
Sahin K, Sahin N, Kucuk O, Hayirli A, Prasad AS, 2009. Role of dietary zinc in heat-stressed poultry: A review. Poultry science 88:2176-2183.
Stanacev VS, Milosevic N, Stanacev VZ, Puvaca N, Milic D, Pavlovski Z, 2014. Chelating forms of microelements in poultry nutrition. World's Poultry Science Journal 70:105-112.
Swiatkiewicz S, Arczewska-Włosek A, Jozefiak D, 2014. The efficacy of organic minerals in poultry nutrition: review and implications of recent studies. World's poultry science journal 70:475-486.
Tanika OD, 2004. Mineral utilization in poultry as affected by virginiamycin or mineral source. MSc, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, United States.
Wang LC, Hooge DM, Wen C, Liang C, Wang T, Zhou YM, 2010. Effects of Dietary Copper Source and Level on Growth, Organ Weights and Carcass Characteristics of Cherry Valley Meat Ducks. International Journal of Poultry Science 9:726-730.

Effect of organic and nano copper supplementation on performance, egg quality, yolk cholesterol and blood parameters of laying hens

P Baghban-Kanani[1], H Janmohammadi[2*], A Taghzadeh[2], SA Mahboob[3], SA Mirghelenj[4]

Received: Accepted:

[1] PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[2] Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
[3] Professor, Faculty of Food and Nutrition Science, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran
*Corresponding author: Email: Mehrzad.hossein@gmail.com

Introduction: The efficacy of the use of microelements is an important issue in modern poultry nutrition. Microelements are essential for normal growth and many metabolic processes in living organisms, as they are catalysts or constituents of the enzymatic systems of many cells. These facts, along with advanced knowledge of the importance of microelements in immunological processes and reproduction and the variable content of trace minerals in feed materials, has lead, in commercial practice, to their being added to poultry diets in high amounts, with a large safety margin, often exceeding the birds' requirements. This can lead to a high concentration of microelements in animals' excreta and their accumulation in the environment, especially in areas of intensive poultry production (Swiatkiewicz et al. 2014). The nanoparticle, which is at least one dimension reduced to a Nano metric size, exhibits new electrical, magnetic, mechanical, and biological properties, which have been determined as critical factors influencing particle uptake. Therefore, the new phenomena and properties of nanoparticles may have unique potential applications. Pekel and Alp (2011) stated that supplementation with 250 mg/kg of copper decreased blood GSH-Px levels and that this could cause a reduction in tissue cholesterol concentrations. Jegede et al (2015) reported that cholesterol content in the yolk of laying hens egg was reduced in birds fed with 150 mg kg^{-1} Copper proteinate.

Material and methods: The experiment included 5 dietary treatments, which consisted of a basal diet, the basal diet with 75 or 150 mg/kg of Cu from organig source (Bioplex, Alltech Inc., Nicholasville, KY) and the basal diet with 75 or 150 mg/kg of Cu from nano (Framelco, The Netherlands). The hens were allocated in individual cages (41×23×43 cm) and two cages were considered to one replicate. Before starting the experiment, the live weights and egg production of all birds were recorded and distributed to all cages in similar weight and equal egg production. The lighting schedule was a 16 h light/8 h dark cycle with an average light intensity of 15 lux, which was maintained until the end of the experiment, and fresh water were provided *ad libitum* throughout the experiment. At the beginning of this experiment fed on a balanced commercial layer diet two weeks prior to study to allow them to adapt and reach a standard level of egg production (data not shown). The data were analyzed based on a completely randomized design using general linear model procedure of SAS (version 8.0; SAS Institute, Cary, USA). When treatment means were significant ($p< 0.05$), the Duncan multiple range test was used to compare the means.

Results and discussion: Feed intake was not affected by dietary treatments ($P >0.05$). Different levels of dietary treatments increased egg production compared to the control group ($P <0.01$). Birds fed diet with 150 mg/kg bioplex and nano copper has a significantly lower feed conversion ratio than control ($P <0.05$). The use of different sources and levels of copper had no significant effect on the quality traits of eggs ($P>0.05$). All dietary treatments resulted in a significant decrease in cholesterol of yolk ($P<0.01$) or plasma ($P<0.05$). Also, the biochemical parameters of plasma were not significantly influenced by the addition of different levels of copper to the diet ($P >0.05$). Lim and Paik (2006) reported a variable effect of organic Cu on the egg production and egg quality. In the present study, the results showed that the addition of organic and nano copper increased egg

mass and production, these results are consistent with Tanika (2004) findings. Eggs are rich source of dietary cholesterol and consumption of high level of dietary cholesterol increases the risk of coronary heart disease (Kritchevsky 2004). Based on the results a significant reduction in egg yolk cholesterol of laying birds fed supplemental copper was seen. These findings are in agreement with previous studies in copper-supplemented birds (Leeson 2004). The significant reduction in yolk cholesterol by feeding copper Bioplex and nano copper shows that organic and nano forms of copper were more effective in reducing cholesterol level when fed to laying birds. This observation agreed with the report of Idowu et al. (2006).

Conclusions: It was concluded that dietary supplementation of 150 mg/kg nano copper and bioplex significantly increased hen day egg production. The cholesterol content in the yolk and plasma of laying hens was reduced in birds fed dietary treatment.

Keywords: Copper bioplex, Laying hen, Nano Copper, Performance, Yolk cholesterol