مقاله علمی پژوهشی/نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۳۲ شماره ۴/ سال۱۴۰۱/ صفحات ۷۵ تا ۸۹

DOI: 10.22034/AS.2022.46436.1618

اثرات سطوح مختلف پودر پونه بر عملکرد تولیدی مرغ‌های تخمگذار مُسن و کیفیت تخم مرغ در دما و زمان مختلف نگهداری

امیر مصیّب زاده[۱]، سیّد علی میرقلنج[۲*]، پیمان حسنلو[۳] و حسین شکوری علیشاه[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۱۱

[۱]دانشجوی دکتری تغذیه طیور گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

[۲]استادیار تغذیه طیور گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

[۳]دانشجوی کارشناسی ارشد تغذیه طیورگروه علوم دامی دانشگاه ارومیه

[*]مسئول مکاتبه: Email: a.mirghelenj@urmia.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: بررسی اثرات استفاده از سطوح مختلف پودر پونه (*Mentha pulegium* L.)، به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتتیک و آنتی بیوتیک‌ها، در تغذیه مرغ‌های تخمگذار مُسن بر عملکرد تولیدی و صفات کیفیت تخم مرغ‌ها تحت شرایط مختلف نگهداری. **هدف**: ارزیابی اثرات سطوح مختلف پودر پونه بر عملکرد تولیدی و صفات مرتبط با کیفیت تخم مرغ‌ها تحت شرایط مختلف نگهداری. **روش کار**: تعداد ۱۲۰ قطعه مرغ تخمگذار سویه Hy-line W36 با سن ۵۳ هفته بین سه تیمار، پنج تکرار و ۸ پرنده در هر تکرار بصورت کاملاً تصادفی توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱) تیمار شاهد (بدون پونه) و تیمارهای ۲ و ۳ بترتیب حاوی ۰/۵ و ۱ درصد پودر پونه بودند. پژوهش حاضر متشکل از دو آزمایش بود که آزمایش اول به منظور بررسی شاخص‌های عملکرد تولید و صفات مرتبط با کیفیت تخم مرغ، و آزمایش دوم به منظور ارزیابی تأثیر پودر پونه بر کیفیت تخم‌مرغ‌های ذخیره شده در دماهای ۲۵ و ٤ درجه سانتی گراد و زمان مختلف نگهداری به مدت ۷ و ۳۰ روز انجام شدند. **نتایج**: نتایج نشان داد که افزودن پودر پونه بطور معنی‌داری موجب کاهش درصد تولید و وزن تخم مرغ‌ها در کل دوره آزمایش شد ($P<0/05$). ضریب تبدیل گروه تغذیه شده با پودر پونه بطور معنی‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). ارزیابی خصوصیات کیفی تخم‌مرغ نشان داد که هیچ یک از فراسنجه‌ها، به جز pH سفیده تخم مرغ و واحد هاو تحت تأثیر افزودن پودر پونه قرار نگرفت. pH سفیده تخم مرغ تحت تأثیر پودر پونه بطور معنی‌داری در مقایسه با تیمار شاهد افزایش و واحد هاو کاهش یافت ($P<0/05$). ارزیابی خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در شرایط محیطی مختلف نشان داد که اثرات اصلی استفاده از سطوح مختلف پودر پونه تأثیر معنی‌داری بر فراسنجه‌های مورد بررسی نداشت. **نتیجه‌گیری کلی**: افزودن پودر پونه در مقادیر استفاده شده در مطالعه حاضر در تغذیه مرغ‌های تخمگذار مُسن، به دلیل اُفت عملکرد تولیدی و خصوصیات کیفیت تخم مرغ و از همه مهمتر کاهش صفات کیفیت داخلی تخم مرغ‌های نگهداری شده در دما و مدت زمان‌های مختلف، توصیه نمی‌گردد.

واژگان کلیدی: آنتی اکسیدان، پونه، خصوصیات کیفیت تخم مرغ، عملکرد تولید، مرغ تخمگذار

مقدمه

استفاده از افزودنی‌های خوراکی به منظور افزایش عملکرد دستگاه گوارش و بهبود وضعیت میکروبی روده به عنوان یک استراتژی مناسب جهت بهبود عملکرد رشد و بازده خوراک شناخته شده است (رحیمی و همکاران ۲۰۱۱). تقریباً ۸۰ درصد از حیوانات اهلی با خوراک‌های حاوی مکمل‌های افزودنی سنتتیک با اهداف درمانی، تحریک رشد و یا سایر اهداف دیگر تغذیه می‌شوند (لی و همکاران ۲۰۰۱). تحقیقات نشان دادند که در صورت تداوم استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه حیوانات ممکن است باکتری‌های بیماری‌زا در برابر آنتی‌بیوتیک‌های موجود مقاوم شده و باعث مواجه‌ها با پدیده‌ایی به نام مقاومت آنتی‌بیوتیکی شود که در واقع این امر به عنوان یک تهدید جدّی برای جامعه بشری و حیوانات محسوب می‌شود (ونتولا ۲۰۱۵). امروزه رقابت بین تولیدکنندگان محصولات طیور به دلیل افزایش تقاضا برای این محصولات افزایش یافته است. بر اساس گزارشات، پیش‌بینی می‌شود تا میزان مصرف گوشت مرغ در کشورهای توسعه یافته از ۱۰/۵ کیلوگرم در سال ۲۰۱۵ به ۱۴ کیلوگرم تا سال ۲۰۳۰ (۲۵ درصد) افزایش یابد. همچنین پیش‌بینی می‌شود که این مقدار افزایش در کشورهای آسیایی در این بازه زمانی با افزایش مصرف گوشت از ۶/۶ کیلوگرم به ۹/۵ کیلوگرم در سال به میزان ۳۰/۵ درصد برسد (سوپریانتا ۲۰۱۶). همین امر در رابطه با مصرف تخم‌مرغ نیز صدق می‌کند؛ بطوریکه براساس گزارشات، سرانه مصرف تخم مرف درجهان رو به افزایش است و کشورهای اروپایی بیشترین مصرف تخم مرغ را در بین سایر کشورها به خود اختصاص داده‌اند. براساس همین گزارشات مردم کشور دانمارک با مصرف ۴/۶ تخم مرغ به ازاء هر فرد در طول هفته بیشترین مصرف کننده تخم مرغ در جهان را به خود اختصاص داده‌اند (مجله گلوبال پولتری ترند ۲۰۱۳). امروزه، به منظور افزایش کمّی محصولات تولیدی طیور استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد زیاد شده است که این امر موجب افزایش نگرانی شده است. بطوریکه بر اساس گزارشات، سالانه ۵۰ هزار نفر تنها در آمریکا و اروپا در اثر مقاوم به باکتری استافیلوکوکوس آئروس[1] جان خود را از دست می‌دهند (اونیل ۲۰۱۴). به همین دلیل، محققان در تلاش برای استفاده از جایگزین‌هایی با اثرات مشابه و فاقد اثرات سوء در تغذیه طیور با هدف افزایش کمّیت و کیفیت محصولات تولیدی هستند.

محققان زیادی در تلاش برای یافتن جایگزین مناسب برای آنتی بیوتیک‌ها بوده و عمدتاً گیاهان دارویی را به دلیل سلامتی و دسترسی بالا و همین‌طور طبیعی و ارزان قیمت بودن آن‌ها در بسیاری از مناطق جهان انتخاب کرده‌اند (حادج‌آید و همکاران ۲۰۱۸ و حاجاتی و همکاران ۲۰۱۵ و حلال و همکاران ۲۰۱۸ و میرقلنج و همکاران ۲۰۱۷a و b و قربانپور و همکاران ۲۰۱۸). محققان اغلب مشتقات بدست آمده از گیاهان دارویی مانند پودر، اسانس و سایر ترکیبات استخراج شده از آن‌ها را مورد بررسی قرار داده‌اند (بهشتی‌روی و همکاران ۲۰۱۸ و کالیشلار و دِمیرتاش ۲۰۱۷ و سیورسکو و همکاران ۲۰۱۶ و یَخکِشی و همکاران ۲۰۱۲). براساس مطالعات انجام شده، گیاهان دارویی یا ترکیبات مشتق شده از آن‌ها چندین مزایای مختلف را بصورت همزمان برای طیور فراهم کرده‌اند.

اثرات منفی رادیکال‌های آزاد بر عملکرد پرندگان خصوصاً در شرایط تحت تنش، مانند استرس گرمایی یا کوکسیدیوز، ثابت شده است (دالوال و همکاران ۲۰۰۶). استفاده از آنتی اکسیدان‌های سنتتیک (مانند آلفا-توکوفرول استات یا هیدروکسی تولوئن بوتیله شده و غیره) از جمله راهکارهای مقابله با اثرات منفی استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد است. امروزه توجهات ویژه‌ایی به استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به ویژه از منشاء گیاهان دارویی شده است. گیاه

[1] *Staphylococcus aureus*

دارویی پونه (*Mentha pulegium* L.)، یکی از اعضاء گیاهان جنس نعنا و از خانواده نعناعیان، گسترش وسیعی در بسیاری از کشورها داشته و عمدتاً به دلیل خواص ضد میکروبی آن در درمان سرماخوردگی، سینوزیت، وبا، سمّ زدایی مواد خوراکی، برونشیت و سل مورد استفاده قرار گرفته است (مهدوی و همکاران ۲۰۱۳). علاوه بر این، با اندازه‌گیری ترکیبات فنولی این گیاه مشخص شد که گیاه پونه خواص آنتی اکسیدانی بسیار قوی نیز دارد (اِل-غُرب ۲۰۰۶). مشخص شده است که ترکیبات فنولی با برقراری پیوند بین رادیکال‌های آزاد و یون‌های فلزی، مانع از ساخت گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند. آنالیز ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه پونه نشان داد که منتول و پولِگون از جمله ترکیبات فعال موجود در این گیاه دارویی است که تأثیر بسزایی بر کاهش سطح مالون دی آلدهید سرم پرندگان دارد (رُبرتو و باراتا ۲۰۰۰). در مطالعه دیگر نیز با آنالیز ترکیبات شیمیایی محققان به وجود ترکیب ۱و۱۸-سینئول به عنوان ترکیب غالب و مؤثره موجود در اسانس گیاه پونه اشاره کردند (محمدی ۲۰۲۰).

مطالعات انجام شده با استفاده از افزودن گیاه پونه و یا مشتقات آن در خوراک مرغ‌های تخمگذار نتایج بسیار متفاوتی را نشان داده است. بطوریکه برخی از مطالعات بهبود عملکرد (آیدین و بولوکباش ۲۰۲۰) و برخی دیگری، اثرات منفی ناشی از افزودن پودر گیاه پونه را گزارش کرده است (ارجمندی و همکاران ۲۰۱۱). برخی ازمحققان اظهار داشتند که این اثرات احتمالاً ناشی از پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ایی و سایر عوامل مرتبط با خوشخوراکی باشد (نوبخت و همکاران ۲۰۱۱). محققان گزارش کردند که پاسخ عملکرد تولیدی حیوان به استفاده از عصاره و پودر گیاه پونه بسیار متفاوت بود؛ بطوریکه عصاره گیاه پونه موجب کاهش تولید تخم مرغ و پودر آن موجب افزایش عملکرد تولیدی مرغ‌های تخمگذار شد (پایمرد و همکاران ۲۰۱۳). علاوه بر عملکرد برخی از مطالعات اثرات مثبت استفاده از پودر پونه بر شاخص‌های بیوشیمیایی خون در مرغ‌های تخمگذار را نیز گزارش داده‌اند (آیدین و بولوکباش ۲۰۲۰). محمدی (۲۰۲۰) با دستیابی به نتایج مشابه، نشان داد که گیاه پونه و شوید از طریق ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در محتوای خود منجر به بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی در مرغ‌های گوشتی شده و همچنین اثرات مثبت استفاده توأم آن‌ها در جیره را پیشنهاد کرد.

مطالعات بسیار محدودی تأثیر استفاده از گیاه پونه بر عملکرد و به ویژه خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در شرایط مختلف را مورد بررسی قرار داده اند. این در حالی است که برخی از مطالعات تأثیر مثبت استفاده از برخی از گیاهان دارویی و ترکیبات خوراکی حاوی قدرت آنتی اکسیدانی بر حفظ کیفیت تخم مرغ‌های ذخیره شده در شرایط مختلف را نشان داده‌اند (میرقلنج و همکاران ۲۰۱۷a, b و پاپاس و همکاران ۲۰۰۵ و اسکریوان و همکاران ۲۰۱۰). تا کنون مطالعه‌ایی در جهت بررسی اثر گیاه پونه بر کیفیت تخم مرغ‌های ذخیره شده در شرایط نگهداری مختلف انجام نشده است. از این رو مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر استفاده از سطوح مختلف پودر گیاه پونه بر عملکرد تولیدی و خصوصیات تخم مرغ تازه و ذخیره شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرندگان، مدیریت و پونه

در این تحقیق از ۱۲۰ قطعه مرغ تخمگذار سویه Hy-line W36 در سن ۵۳ هفته استفاده شد. پرندگان با وزن بدن مشابه (۴۰ ±۱۴۵۰ گرم) انتخاب و بین تیمارهای آزمایشی بصورت کاملاً تصادفی به سه تیمار با ۵ تکرار و ۸ قطعه پرنده در هر تکرار اختصاص داده شدند. پرندگان به منظور سازگاری با شرایط آزمایش، خصوصاً جیره‌های آزمایشی، ابتدا به مدت ۲ هفته با

جیره پایه تغذیه شده و سپس به مدت ۸ هفته با تیمارهای آزمایش تغذیه شدند. تیمارهای آزمایشی مطالعه حاضر شامل ۱) تیمار شاهد (فاقد پودر پونه)، ۲) تیمار حاوی ۰/۵ درصد پودر پونه و ۳) تیمار حاوی ۱ درصد پودر پونه که بر پایه ذرت و کنجاله سویا و مطابق با توصیه‌های تغذیه‌ایی سویه Hy-line W36 (2020) تنظیم شدند (جدول ۱).

Table 1- Feed ingredients and composition of basal diets

Feed ingredients (%)	Control diet (without pennyroyal)
Corn	56.01
Soybean meal (44%)	24.62
Wheat bran	2.5
Soy oil	2.00
Dicalcium phosphate (DCP)	1.99
Oyster shell	11.43
Common salt	0.23
Sodium bicarbonate	0.15
DL-Methionine	0.16
L-Lysine HCl	0.005
Vitamin premix[1]	0.3
Mineral premix[2]	0.3
Calculated nutrient composition	
ME (Kcal/Kg)	2700
Crude protein (%)	16
Calcium (%)	4.4
Available phosphor (%)	0.5
Crude fiber (%)	3.2
Sodium (%)	0.17
Methionine (%)	0.45
Methionine + Cysteine (%)	0.72
Lysine (%)	0.85
Threonine (%)	0.54
Tryptophan (%)	0.19
DEB[3] (Meq/kg)	204

[1]Supplied vitamins per kilogram of diet: A, 10000 IU; D3 2500 IU; E 10 IU; B1 2.2 mg; B2 4 mg; B3, 8 mg; B6 2 mg; B9 0.56 mg; B12, 0.015 mg; Choline 200mg.
[2]Supplied minerals per kilogram of diet: Mn, 80 mg; Fe 50 mg; Zn 60 mg; Cu 12 mg; Sodium Selenite, 0.3 mg.
[3]Dietary electrolyte balance

پژوهش حاضر متشکل از دو آزمایش بود که در آزمایش اول به منظور بررسی شاخص‌های عملکردی و صفات کیفیت تخم مرغ، تعداد و وزن تخم مرغ‌های تولید شده بصورت روزانه ثبت، و مصرف خوراک، ضریب تبدیل خوراک و توده تخم مرغ تولیدی بصورت هفتگی محاسبه شدند. جهت ارزیابی صفات کیفیت تخم مرغ‌ها در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار تعداد ۲ عدد تخم مرغ (مجموعاً ۱۰ عدد تخم مرغ از هر تیمار) برداشته شده و مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش دوم، تعداد ۲ عدد تخم مرغ برای ارزیابی صفات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در شرایط محیطی مختلف (به مدت ۷ و ۳۰ روز و دماهای نگهداری ٤ و ۲۵ سانتی‌گراد) برداشته شدند.

در این آزمایش از قفس‌های فلزی با ابعاد ٤٥ × ٤٥ × ۱۱۰ سانتی‌متر استفاده شد که پرندگان با استفاده از سیستم آبخوری سر پستانکی دسترسی آزاد به آب داشتند. برگ پونه استفاده شده در این مطالعه از یکی از مراکز فروش گیاهان دارویی محلی تهیه و سپس ، با قرار دادن در معرض هوا و دمای اتاق خشک شده و در نهایت آسیاب شد. ترکیبات شیمیایی و اسانس‌های گیاهی پودر پونه با استفاده از روش شیمیایی ارزیابی شد. برای این منظور ابتدا جهت استخراج اسانس‌ها، پودر برگ پونه به مدت ٤ ساعت تحت فرآیند تقطیر با آب مقطر قرار داده شد. اسانس‌های بدست آمده پس از خشک شدن با سدیم سولفات بدون آب با استفاده از اسپکترومتری کروماتوگرافی-حجمی گاز (Thermofinigan, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و شناسایی ترکیبات شیمیایی بر پایه شاخص ابقاء[1] و تزریق همزمان استاندارد و مقایسه با اطلاعات ثبت شده در MS انجام شد (اسپارکمن ۱۹۹۷). نتایج اندازه‌گیری ترکیبات اسانسی مورد نظر در جدول ۲ آورده شده است.

[1] Retention Index

Table 2- Chemical compositions of the pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) aerial parts powder

Chemical composition	Amount (%)
1,8-Cineole*	14.54
p-menthone	4.91
Menthol	7.16
Isomenthone	5.63
Pulegone*	17.11
Cis-piperitone oxide	4.43
Piperitenone oxide	3.80
Piperitone*	14.76
Caryophyllene	1.6
L-limonene	2.1
Thymol	1.2

*The dominant compounds of the aerial parts of the pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) powder.

شاخص‌های عملکردی

برای ارزیابی شاخص‌های عملکردی مرغ‌های تخمگذار، تخم مرغ‌ها دو بار در روز (ساعت ۱۰ صبح و ۱۶ بعد از ظهر) جمع آروی و تعداد تخم مرغ و میانگین وزن تخم مرغ‌های تولیدی بصورت روزانه ثبت شد. توده تخم مرغ تولیدی و مصرف خوراک اندازه‌گیری شده و ضریب تبدیل خوراک نیز بصورت هفتگی محاسبه شدند. برای محاسبه توده تخم مرغ تولیدی، میانگین وزن تخم مرغ تولیدی در روز را به درصد تولید تخم مرغ روزانه ضرب شدند:

$$\text{درصد تولید تخم مرغ روزانه} = \frac{\text{کل تخم مرغ‌های تولیدی هر واحد آزمایشی}}{\text{روز مرغ همان واحد آزمایشی}}$$

روز مرغ = (تعداد مرغ‌های زنده × روزهای آزمایشی)

توده تخم مرغ تولیدی = میانگین وزن تخم مرغ هر تکرار × درصد تولید تخم مرغ روزانه آن تکرار

ضریب تبدیل خوراک هر واحد آزمایشی با تقسیم مقدار خوراک مصرفی (گرم) بر توده تخم مرغ‌های تولید شده (گرم) آن واحد آزمایشی (بصورت هفتگی) محاسبه شد. مصرف خوراک، با جمع آوری خوراک باقی مانده در دانخوری‌ها در پایان هر هفته، اندازه‌گیری شد. درصد زنده مانی پرندگان و میانگین افزایش وزن در کل دوره آزمایش رکورد برداری شدند.

ارزیابی صفات کیفیت تخم مرغ

خصوصیات کیفیت تخم مرغ در دو مرحله مختلف ارزیابی شدند، که مرحله اول (آزمایش اول) در انتهای دروه آزمایش (هفته هشتم) و مرحله دوم (آزمایش دوم) پس از نمونه‌برداری در انتهای دوره (هفته هشت آزمایش) و ذخیره‌سازی تخم مرغ‌ها به مدت هفت و سی روز در دماهای ٤ و ٢٥ درجه سانتی‌گراد انجام شدند. برای این منظور در هر دو مرحله آزمایش، تعداد ۲ عدد تخم مرغ از هر تکرار انتخاب شده و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه منتقل شدند. ابتدا، تخم مرغ‌ها یک روز پس از نمونه برداری و نگهداری در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) جهت خنک شدن، با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم (مدل KEB 602؛ چین) توزین شدند. شاخص شکل تخم مرغ با اندازه‌گیری و تقسیم کردن طویل‌ترین و عریض‌ترین قسمت تخم مرغ و با استفاده از کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر (مدل BakingWin، چین) اندازه گیری و محاسبه گردید. چگالی تخم مرغ‌ها با استفاده از روش ارائه شده توسط دانشگاه فلوریدا (باچر و مایلز ۱۹۹۱) اندازه‌گیری شد. برای این منظور مقادیر مشخصی از نمک بدون یُد با آب مقطر مخلوط شده (برای چگالی‌های ۱/۰٦۰۰ تا ۱/۰۹۷۵ بترتیب از ۷۲/۱۲٦ گرم بر لیتر تا ۱۷۳/۱۸۰ گرم بر لیتر نمک خالص) استفاده شد. تخم مرغ‌ها به ترتیب از چگالی‌های کمتر به بیشتر در آب غوطه‌ور شدند و شماره آخرین محلول چگالی‌ای که تخم مرغ در آن شناور بود و به کف ظرف نرفته بود، ثبت شد. استحکام پوسته تخم مرغ‌ها در برابر نیروی فشار وارد شده توسط دستگاه استحکام سنج (Ogawa Seiki 020603, Co. Ltd. Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد. در نهایت زرده و سفیده تخم مرغ‌های شکسته شده، جدا و وزن زرده و سفیده با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. سپس، درصد سفیده و زرده تخم

مرغ‌ها محاسبه شد. ارتفاع سفیده و زرده با استفاده از دستگاه هاو متر دستی (مدل Analog Baxlo Haugh Micrometer)، تهیه شده از جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی، اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع زرده و سفیده، تخم مرغ‌ها پس از شکستن در یک سطح کاملاً صاف قرار داده شد. مقادیر مربوط به ارتفاع، در هر نقطه‌ایی که نوک ارتفاع سنج با سطح سفیده (با فاصله یک سانتی‌متر از اطراف زرده) یا زرده برخورد داشت، قرائت شد. مقدار مربوط به واحد هاو با استفاده از رابطهٔ زیر محاسبه شد (هاو ۱۹۳۷):

$$HU = \log (AH - 1.7\ EW^{0.37} + 7.57)$$

HU: واحد هاو؛ AH: ارتفاع آلبومین (میلی‌متر)؛ EW: وزن تخم مرغ (گرم)؛ لگاریم بر مبنای ۱۰

قطر زرده با استفاده از کولیس با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد و برای ارزیابی رنگ زرده از شاخص رنگ رُش[1] استفاده شد. برای ارزیابی شاخص زرده مقادیر مربوط به ارتفاع و قطر زرده تقسیم شدند (فانک ۱۹٤۸):

$$YI = (YH/YD) \times 100$$

YI: شاخص زرده؛ YH: ارتفاع زرده (میلی‌متر)؛ YD: قطر زرده (میلی‌متر)

برای اندازه‌گیری pH، مقدار ۲ گرم از سفیده و زرده با نسبت ۱ به ۹ با آب مقطر مخلوط شده و تا زمان تشکیل کف (۵ دقیقه)، خوب هم زده شد. پس از فروکش کردن کف تولید شده، با قرار دادن حسگر pHمتر (مدل Microcontroller MTT 65) عدد مربوط به pH ثبت شد (فانک ۱۹٤۸). در انتها پوسته تخم مرغ‌ها به خوبی شسته شده و خشک شد (ابتدا به مدت ۱۲ ساعت در دمای اتاق و سپس به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد). پوسته‌های خشک شده، با استفاده از ترازو (با دقت ۰/۰۱ گرم) توزین شده و با استفاده از مقدار بدست آمده، وزن، و در انتها درصد سفیده تخم مرغ‌ها، محاسبه شد. با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر (مدل Outside meter YP001، ژاپن)، ضخامت سه قسمت (بالا، وسط و پائین) از پوسته تخم مرغ‌ها اندازه‌گیری شده و میانگین سه قسمت اندازه‌گیری شده به عنوان ضخامت پوسته در نظر گرفته شد.

در مرحله دوم که به منظور ارزیابی خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در دما و مدت زمان‌های مختلف طراحی شده بود، در انتهای دوره آزمایش از هر تکرار ۲ عدد تخم مرغ برای هر یک از شرایط نگهداری (۷ روز در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) و یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد)؛ ۳۰ روز در دمای اتاق و یخچال؛ مجموعاً ۱۰ تخم مرغ از هر تکرار برای مرحله دوم) جمع آوری شده بودند، پس از اتمام هر دوره به آزمایشگاه منتقل و صفات مرتبط با کیفیت تخم مرغ همانند آزمایش قبلی انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SAS نسخه 9.2 (سَس ۲۰۰۹) بصورت آماری تجزیه و تحلیل شدند. برای تعیین معنی‌داری تفاوت‌های بین میانگین‌ها از تست توکی استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ (P<۰/۰۵) به عنوان معنی‌دار شناخته شدند. مدل آماری استفاده شده برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش اول به صورت زیر بود:

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

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

مدل آماری استفاده شده برای تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش دوم نیز به شکل زیر بود:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (BC)_{jk} + (AC)_{ik} + (ABC)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk}: K اُمین مشاهده مربوط به j اُمین سطح فاکتور B و i اُمین سطح فاکتور A

A_i: اثر i اُمین سطح عامل A؛ B_j: اثر j اُمین سطح عامل B؛ C_k: اثر K اُمین سطح عامل C؛ $(AB)_{ij}$: اثر متقابل A و B؛ $(BC)_{jk}$: اثر متقابل B و C؛ $(AC)_{ik}$: اثر متقابل عامل A

[1] Rosh color scale

و C؛ $(ABC)_{ijk}$: اثر متقابل A، B و C؛ ε_{ijk}: خطای آزمایش با میانگین صفر و واریانس می‌باشد

A: سطوح مختلف پودر پونه، B: دمای نگهداری تخم مرغ‌ها، C: مدت زمان نگهداری تخم مرغ‌ها بودند.

نتایج

عملکرد

نتایج تأثیر سطوح مختلف پودر گیاه پونه بر عملکرد پرندگان در کل دوره در جدول ۳ آورده شده است. همانطور که نشان داده شده است، استفاده از پودر گیاه پونه در هر دو سطح مورد استفاده در آزمایش حاضر موجب کاهش معنی‌دار درصد تولید و توده تخم مرغ تولیدی شد (P<۰/۰۵). ضریب تبدیل خوراک خوراک در پرندگان تغذیه شده با سطوح مختلف پودر پونه بطور معنی دار افزایش یافت (P<۰/۰۵). این در حالی بود که وزن تخم مرغ، مصرف خوراک، درصد زنده مانی و افزایش وزن بدن تحت تأثیر افزودن پودر گیاه پونه قرار نگرفت. آنالیز داده‌های مربوطه نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در زنده مانی (۳/۲ ± ۹۸٪) و میانگین افزایش وزن (۴۰ ± ۱۴۵۰ گرم) شاخص‌های اشاره شده وجود نداشت (نتایج در جداول آورده نشده است).

Table 3- Effects of different levels of pennyroyal supplementation on production performance of old laying hens (total period)

Pennyroyal (%)	Egg production (%)	Egg weight (g)	Egg mass (g)	Feed intake (g)	FCR (g: g)
Control	67.19[a]	64.20	43.13[a]	99.62	2.31[b]
0.5	63.28[b]	62.49	39.54[b]	99.50	2.51[a]
1	62.50[b]	62.93	39.32[b]	99.25	2.52[a]
SEM	0.712	0.551	0.365	0.469	0.028
P-value	<0.01	0.129	<0.01	0.850	<0.01

*Means within same column with different letters differ significantly (P<0.05)

خصوصیات کیفیت تخم مرغ (آزمایش اول/تخم مرغ‌های تازه پایان دوره)

نتایج ارزیابی خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌ها در انتهای دوره آزمایش (آزمایش اول/تخم مرغ‌های تازه پایان دوره) در جدول ٤ آورده شده است. همانطور که نشان داده شد، استفاده از هر دو سطح پودر گیاه پونه در تغذیه مرغ‌های تخمگذار مُسن در آزمایش حاضر موجب کاهش واحد هاو شد (P<۰/۰۵). pH سفیده تخم مرغ در اثر مصرف تیمارهای آزمایشی حاوی سطوح مختلف پودر گیاه پونه بطور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). سایر صفات اندازه گیری شده (درصد زرده، درصد سفیده، درصد پوسته، ضخامت پوسته، ارتفاع زرده، pH زرده، چگالی تخم مرغ، استحکام پوسته، رنگ زرده و شاخص زرده) تحت تأثیر استفاده از پودر پونه در جیره مرغ‌های تخمگذار مُسن قرار نگرفتند.

خصوصیات کیفیت تخم مرغ (آزمایش دوم/ذخیره شده)

نتایج ارزیابی خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در دما (٤ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و مدت زمان (۷ و ۳۰ روز) در جدول ۵ آورده شده است. نتایج اثرات اصلی سطوح پودر پونه، زمان نگهداری و دمای نگهداری بر کیفیت داخلی تخم مرغ‌های ذخیره شده در جدول ۵ آورده شده است. همانطور که نشان داده شده است، هیچ یک از صفات مورد ارزیابی تحت تأثیر اثرات اصلی سطوح مختلف پودر گیاه پونه قرار نگرفت. در حالیکه واحد هاو و pH سفیده بطور معنی‌داری تحت تأثیر زمان نگهداری تخم مرغ‌ها قرار گرفت، بطوریکه با افزایش مدت زمان نگهداری واحد هاو کاهش و pH سفیده افزایش یافت (P<۰/۰۵). علاوه بر این، اثرات اصلی دمای نگهداری تخم مرغ‌ها بر شاخص زرده،

واحد هاو، pH سفیده و ارتفاع زرده معنی‌داری بود بطوریکه با افزایش دما شاخص زرده، واحد هاو و ارتفاع زرده کاهش یافت و pH سفیده افزایش یافت (P<۰/۰۵).

Table 4- Effects of different levels of pennyroyal powder supplementation on quality traits of egg (first experiment)

Pennyroyal (%)	YP (%)	AP (%)	SHP (%)	SHT (mm)	HU	YH (mm)	ApH	YpH	ED	SHS (kg/m^2)	YC	YI
Control	28.40	62.90	8.68	0.457	86.56[a]	16.45	7.85[b]	6.81	1.0875	2.01	8.75	37.67
0.5	27.82	63.19	8.98	0.430	80.85[b]	16.44	8.17[a]	6.93	1.0850	2.81	8.37	37.99
1	26.48	64.93	8.58	0.426	81.67[b]	15.51	8.26[a]	7.00	1.0825	2.13	8.87	35.63
SEM	0.675	0.662	0.194	0.010	1.547	0.364	0.0795	0.089	0.001	0.255	0.221	0.835
P-value	0.143	0.087	0.340	0.095	0.028	0.138	<0.01	0.326	0.147	0.080	0.273	0.121

*Means within same column with different letters differ significantly (P<0.05).
YP: Yolk percentage; AP: Albumen percentage; SHP: Shell percentage; SHT: Shell thickness; HU: Haugh unit; YH: Yolk height; ApH: Albumin pH; YpH: Yolk pH; ED: Egg density; SHS: Shell breaking Strength; YC: Yolk color index; YI: yolk index.

نتایج اثرات متقابل بین سطح پودر پونه و مدت زمان نگهداری تخم مرغ‌ها بر خصوصیات کیفیت داخل تخم مرغ نشان داد که برهمکنش بین سطح پودر پونه و مدت زمان ذخیره بر شاخص زرده، واحد هاو و ارتفاع سفیده معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). بدین ترتیب، با افزایش مدت زمان نگهداری شاخص زرده و ارتفاع زرده افزایش یافت و این افزایش در گروه‌های تغذیه شده با پودر پونه کمتر بود بطوریکه در تیمار ۱ درصد پودر پونه این روند کاهشی بود. واحد هاو با افزایش زمان ذخیره سازی کاهش یافت که این کاهش در تیمارهای حاوی پونه شدیدتر بود.

اثرات متقابل بین سطح پودر گیاه پونه و دمای ذخیره سازی بر خصوصیات کیفیت داخل تخم مرغ نیز نشان داد که اثرات متقابل بین سطح پودر گیاه پونه و دمای ذخیره‌سازی در pH سفیده و زرده معنی‌دار بود (P<۰/۰۵)؛ بطوریکه این فراسنجه‌ها با افزایش سطح پودر پونه و دمای ذخیره سازی، برخلاف تیمار شاهد، افزایش یافتند؛ به عبارت دیگر اگر چه پونه موجب کاهش pH زرده و سفیده در مقایسه با تیمار شاهد شد اما با افزایش دمای ذخیره سازی pH زرده و سفیده افزایش یافت. اثرات متقابل مدت زمان ذخیره سازی و دمای ذخیره سازی تخم مرغ‌ها بر خصوصیات کیفیت داخل تخم مرغ نشان داده شده است. بر طبق این مشاهدات، برهمکنش معنی‌داری بین مدت زمان و دمای ذخیره سازی تخم مرغ‌ها در شاخص هاو و pH زرده وجود داشت (P<۰/۰۵). بنابراین، افزایش دمای ذخیره سازی واحد هاو را کاهش داده و این کاهش در گروه تخم مرغ‌های ذخیره سازی شده به مدت ۳۰ روز شدیدتر بود. طی ۷ روز ذخیره سازی با افزایش دما pH زرده افزایش یافت در حالیکه طی ۳۰ روز ذخیره سازی این روند معکوس شده و pH زرده کاهش یافت.

نتایج اثرات متقابل هر سه عامل مستقل مؤثر بر متغییر وابسته در این آزمایش نشان داده شده است؛ هیچ بر همکنش معنی‌داری بین سطوح مختلف پودر پونه، دماها و مدت زمان‌های مختلف ذخیره سازی بر کیفیت داخلی تخم مرغ‌های ذخیره شده وجود نداشت.

Table 5- Main and interaction effects of pennyroyal powder supplementation, storage duration and temperature on egg internal quality traits under different storage conditions

	YI	HU	ApH	YpH	YH (mm)
Main effects of pennyroyal supplementation	0.373	0.151	0.237	0.526	0.318
Main effects of storage time	0.103	<0.01	0.022	0.345	0.101
Main effects of storage temperature	<0.01	<0.01	<0.01	0.823	<0.01
Pennyroyal (%) × storage time (days)	<0.01	0.014	0.976	0.802	<0.01
Pennyroyal (%) × temperature (°C)	0.136	0.448	<0.01	<0.01	0.114
Storage time (days) × temperature (°C)	0.943	<0.01	0.376	<0.01	0.941
Pennyroyal (%) × storage time (days) × temperature (°C)	0.587	0.411	0.196	0.652	0.590

*Means within same column with different letters differ significantly (P<0.05).
YI: yolk index; HU: Haugh unit; ApH: albumen pH; YpH: yolk pH; YH: yolk height.

بحث

با توجه به محدودیت بسیار زیاد در مطالعات انجام شده جهت ارزیابی اثر گیاه پونه بر عملکرد و خصوصا صفات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در شرایط مختلف؛ مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر استفاده از پودر گیاه پونه به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی، به دلیل محتوای بالای اسانس‌های گیاهی، بر عملکرد و خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در دما و مدت زمان‌ها مختلف طراحی و اجرا شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از پودر برگ پونه در مقادیر استفاده شده در مطالعه حاضر موجب کاهش عملکرد تولید شد. بدین ترتیب درصد تولید، توده تخم مرغ تولیدی کاهش یافته و ضریب تبدیل افزایش یافت. نتایج بدست آمده در این پژوهش در توافق با مطالعات پیشین است (ارجمندی و همکاران ۲۰۱۱ و نوبخت و همکاران ۲۰۱۱). بررسی اسانس‌های گیاهی موجود در ترکیبات پونه، همانطور که در مطالعه حاضر نیز اندازه‌گیری شد، نشان داد که گیاه پونه حاوی ۱ الی ۲ درصد اسانس است که مهم‌ترین ترکیب آن پالِگون است (بارِنس و همکاران ۲۰۰۲). علاوه بر این اندازه‌گیری اسانس‌های گیاه پودر برگ خشک شده پونه مورد استفاده در مطالعه حاضر، مطابق با اندازه‌گیری محققان پیشین، نشان داد که این گیاه حاوی مقادیر بالایی از ترکیب ۱و۸-سینئوله است (محمدی ۲۰۲۰). مطالعات قبلی اثرات سمّی سطوح بالای مصرف پودر پونه به دلیل محتوای بالای پولِگون را ثابت کرده‌اند و اظهار داشتند که احتمالا این ترکیب پس از متابولیزه شدن تبدیل به یکسری از ترکیبات فعال، از جمله منتوفروان، می‌گردد که این ترکیبات برای کبد بسیار خطرناک و سمّی بوده و در موارد حادتر ممکن است موجب آسیب به کبد و در نهایت تورم ریه‌ها و خونریزی‌های داخلی شود (ارجمندی و همکاران ۲۰۱۱ و نوبخت و همکاران ۲۰۱۱). اندازه‌گیری ترکیب اسانس‌های گیاه در مطالعه حاضر نشان داد که پودر برگ پونه استفاده شده در مطالعه حاضر حاوی مقادیر بالایی پالگون (۱۷/۱۱ درصد) است که می‌تواند اثرات مضری را بر کبد و در نتیجه عملکرد تولید و صفات کیفیت تخم مرغ‌ها داشته باشد. همانطور که مشخص است، کبد یک اندام بسیار پر کار و حساس، خصوصاً در مرغ‌های تخمگذار، است. زیرا مهم‌ترین بخش تخم مرغ که زرده آن است، مستقیماً توسط چربی‌های ارسال شده توسط لیپوپروتئین‌ها از کبد به تخمدان تشکیل می‌شود. بنابراین هر گونه اختلال در عملکرد کبد می‌تواند عملکرد تولیدی پرنده را به شدت تحت تأثیر قرار دهد. پیش از این، مطالعاتی که تأثیر برخی از ترکیبات خوراکی و سایر گیاهان دارویی با خواص آنتی اکسیدانی، مانند تفاله گوجه فرنگی (میرقلنج و همکاران ۲۰۱۷b)، چای سبز (کنعانی و همکاران ۲۰۲۰)، لوبیا *Vicia faba L.* (نیاکوتی و همکاران

۱۹۹۷) و غیره را مورد ارزیابی قرار داده بودند، نشان دادند که ترکیبات فنولی و اسانس‌های موجود در این افزودنی‌ها احتمالاً از طریق آسیب به کبد و یا اختلال در فرآیند هضم و جذب اسیدهای چرب از روده موجب کاهش تولید ترکیبات تشکیل دهنده زرده شده و از این طریق موجب کاهش تولید و کاهش وزن تخم مرغ و در نهایت توده تخم مرغ تولیدی می‌شوند. برخی از محققان با بررسی تأثیر زردچوبه بر عملکرد تولیدی مرغ‌ها تخمگذار نشان دادند که کورکومین موجود در زردچوبه با اختلال در عملکرد پروتئین مسئول جذب اسیدهای چرب و باز جذب اسیدهای صفراوی با نام پروتئین نیمَن-پیک سی ۱ شبیه به نوع ۱[1] موجب کاهش سطح کلسترول و تری‌گلیسرید خون می‌شود که این امر متعاقباً موجب کاهش عملکرد تولیدی حیوان خواهد شد (آلتمَن و همکاران ۲۰۰٤ و سَرَسوتی و همکاران ۲۰۱۳). ضریب تبدیل خوراک مصرفی در مرغ‌های تخمگذار معیاری وابسته به توده تخم مرغ تولیدی و درصد تولید تخم مرغ است. بنابراین کاهش درصد تولید و توده تخم مرغ تولیدی و عدم تغییر مقدار خوراک مصرفی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی مسلماً موجب افزایش ضریب تبدیل خوراک خواهد شد. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر در توافق با یافته‌های مطالعات پیشین است؛ از این رو، انتظار می‌رود که کاهش درصد تولید و توده تخم مرغ و در نتیجه افزایش ضریب تبدیل خوراک می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مشابهی تحت تأثیر قرار گرفته باشند. همانطور که در ابتدای بحث اشاره شد، به دلیل محدودیت در مطالعات موجود در رابطه با تأثیر پودر پونه بر عملکرد و صفات کیفیت تخم مرغ‌های ذخیره شده در شرایط مختلف، به ناچار مجبور نتایج بدست آمده با مطالعات اندک در زمینه پودر پونه و سایر مطالعات انجام شده در زمینه گیاهان دارویی دیگر و ترکیبات حاوی خواص فیزیکوشیمیایی مشابه با پونه مقایسه شد.

در مطالعه حاضر تأثیر تغذیه پودر پونه بر خصوصیات کیفیت تخم مرغ‌ها ی تازه و ذخیره شده در دماها و مدت زمان‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. همانطور که نتایج نشان داد استفاده از پودر پونه در تغذیه مرغ‌های تخمگذار مُسن موجب کاهش واحد هاو و چگالی و افزایش pH سفیده تخم مرغ شد. مطالعات پیشین ارتباط بین افزایش pH سفیده تخم مرغ با کاهش واحد هاو در اثر مصرف ترکیبات فنولی یا اسانس‌های گیاهی با منشاء گیاهان دارویی را نشان دادند اما دلیل واضحی برای مواجه با این تغییرات پیدا نکردند . محققان با اشاره به تضعیف پیوندهای بین اوُموسین و لیزوزیم موجود در سفیده غلیظ در اثر مصرف خوراک‌های مکمل سازی شده با افزودنی‌های گیاهی حاوی مقادیر بالای ترکیبات فنولی یا اسانس‌ها، اظهار داشتند که احتمالاً یکی از عوامل کاهش ارتفاع سفیده غلیظ و متعاقب آن کاهش واحد هاو، آسیب به سلول‌های ترشح کننده سفیده غلیظ و در نتیجه تضعیف پیوندهای بین اوُموسین و لیزوزیم سفیده تخم مرغ باشد. علاوه بر این، این تغییرات بطور قابل ملاحظه‌ایی موجب افزایش pH سفیده تخم مرغ می‌شوند (آهِن و همکاران ۱۹۹۹ و آرپاسُوا و همکاران ۲۰۱٤). بنابراین انتظار می‌رود که تمام این شرایط نهایتاً موجب کاهش کیفیت پروتئین تخم مرغ‌ها، خصوصاً در صورت نگهداری برای مدت‌های طولانی‌تر گردد.

در تحقیق حاضر و در آزمایش دوم که به منظور بررسی تأثیر تغذیه پودر گیاه پونه بر روند کاهش کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده در دماها (٤ و ۲۵ درجه سانتی گراد) و زمان‌های مختلف (۷ و ۳۰ روز) انجام شد، مشخص شد که اثرات اصلی پودر پونه تأثیر معنی‌داری بر این روند نداشت، اما افزایش مدت زمان و دمای نگهداری بطور معنی‌داری صفات کیفیت و خصوصاً pH سفیده تخم مرغ و واحد هاو را بطور منفی تحت تأثیر قرار داد. نتایج مطالعه حاضر تا حد زیادی با

[1] Niemann-Pick protein C1-Like 1; NPC1L1

مطالعات پیشین مطابقت دارد (چوکووکا و همکاران ۲۰۱۱ و میرقلنج و همکاران ۲۰۱۷a, b). پیش از این محققان نشان دادند که با افزایش زمان ذخیره سازی تخم‌مرغ‌ها، pH سفیده تخم مرغ کاهش یافته و این امر متعاقباً موجب کاهش واحد هاو می‌گردد (سیلورسایدز و اسکات ۲۰۰۱). بر اساس مطالعات قبل، افزایش مدت زمان نگهداری تخم مرغ‌ها به دلیل اکسید شدن لیپیدهای موجود در غشاء ویتلین زرده و در نتیجه افزایش تبادل یون‌ها بین سفیده و زرده، pH هر دو بخش به شدت تغییر یافته و این امر به دلیل سُست کردن پیوندهای موجود در بین پروتئین‌های سفیده منجر به کاهش واحد هاو و در نتیجه کاهش کیفیت تخم مرغ‌های نگهداری شده می‌گردد (آهِن و همکاران ۱۹۹۹).

نتیجه‌گیری کلی

استفاده از پودر برگ خشک شده گیاه پونه تا سطح ۱ درصد احتمالاً به دلیل محتوای بالای اسانس‌های گیاهی، به ویژه پالِگون، موجب کاهش عملکرد تولیدی مرغ‌های تخمگذار مُسن می‌گردد. علاوه بر این، گمان می‌رود که همین عامل موجب ناتوانی در جلوگیری از کاهش کیفیت داخلی تخم مرغ‌ها، خصوصاً تخم مرغ‌های ذخیره شده در شرایط و دماهای مختلف باشد. در نتیجه استفاده از آن مطابق با اهداف و فرضیه این آزمایش توصیه نمی‌گردد.

منابع مورد استفاده

Ahn D, Sell J, Jo C, Chamruspollert M and Jeffrey M, 1999. Effect of dietary conjugated linoleic acid on the quality characteristics of chicken eggs during refrigerated storage. Poultry Science 78, 922-928.

Altmann SW, Davis HR, Zhu L-j, Yao X, Hoos LM, Tetzloff G, Iyer SPN, Maguire M, Golovko A and Zeng M, 2004. Niemann-Pick C1 Like 1 protein is critical for intestinal cholesterol absorption. Science 303, 1201-1204.

Arjomandi M, Nobakht A, Pishchang J, Mehmannavaz Y and Chekaniazar S, 2011. Evaluoation the effects of using of probiotic, and pennyroyal,(Mentha pulegium L.) medicinal plant on perormance of laying hens. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 1, 164-167.

Arpášová H, Kačániová M, Gálik B, Čuboň J and Mellen M, 2014. The Effect of Oregano Essential Oil and Rhus coriaria L. on selected performance parameters of laying hens. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies 47, 12-16.

Aydın A and Bölükbaşı ŞC, 2020. Effect of Supplementation of Hen Diet with Pennyroyal Extract (Mentha pulegium) on Performance, Egg Quality and Yolk TBARS Values. Pakistan Journal of Zoology 52(3), p 1045.

Barnes J, Anderson LA and Phillipson JD, 2002. Herbal medicines: a guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press.

Beheshti Rooy S, Ziaei N, Ghoreishi S and Ganjian Khenari A, 2018. Comparison of the effect of different levels of Scenedesmus sp. microalgae on growth, immune response, carcass traits, and some blood parameters of broiler chickens. Journal of Agricultural Science and Technology 20, 1115-1126.

Butcher GD and Miles RD, 1991. Egg specific gravity: designing a monitoring program. Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, 1991.

Calislar S and Demirtas I, 2017. Effects of Culban Seed (Vicia Peregrina L.) on Performance and Egg Characteristics of Laying Hens. Journal of Agricultural Science and Technology 19, 581-589.

Chukwuka O, Okoli I, Okeudo N, Udedibie A, Ogbuewu I, Aladi N, Iheshiulor O and Omede A, 2011. Egg quality defects in poultry management and food safety. Asian Journal of Agricultural Research 5, 1-16.

Ciurescu G, Ropota M, Toncea I and Habeanu M, 2016. Camelia (Camelina sativa L. Crantz variety) oil and seeds as n-3 fatty acids rich products in broiler diets and its effects on performance, meat fatty acid composition, immune tissue weights, and plasma metabolic profile. Sid.ir, 315-326.

Dalloul R, Lillehoj H, Lee J, Lee SH and Chung K, 2006. Immunopotentiating effect of a Fomitella fraxinea-derived lectin on chicken immunity and resistance to coccidiosis. Poultry science 85, 446-451.

El-Ghorab AH, 2006. The chemical composition of the Mentha pulegium L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. Journal of Essential Oil Bearing Plants 9, 183-195.

Erhan M, Aktaş Ş and Ürüşan H, 2015. The effects of supplementation of pennyroyal (Mentha Pulegium L) on meat fatty acid composition and shelf-life in broilers. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi 10, 179-185.

Funk E, 1948. The relation of the yolk index determined in natural position to the yolk index as determined after separating the yolk from the albumen. Poultry Science 27, 367.

Global Poultry Trends, 2013: European Egg Consumption Linked to Production and Population. The Poultry Site: 5m Publishing 2014.

Hadj Ayed M, Aïssa A and Noumi M, 2018. A Comparative Study between the Effects of Feed Inclusion with Garlic (Allium sativum), Cloves and Turmeric (Curcuma longa) Rhizome Powder on Laying Hens' Performance and Egg Quality. Iranian Journal of Applied Animal Science 8, 693-7-01

Hajati H, Hassanabadi A, Golian A, Nassiri MH and Nassiri M 2015. The effect of grape seed extract and vitamin C feed supplements carcass characteristics, gut morphology and ileal microflora in broiler chickens exposed to chronic heat stress. Italian Journal of Animal Science. 2015 Jan 1;14(3):3273.

Haugh R, 1937. The Haugh unit for measuring egg quality. United States egg and poultry magazine 43, 522-555.

Helal F, El-Badawi A, El-Wardany I, Ali N and Aboelazab O, 2018. Effect of dietary moringa (Moringa oleifera) and rosemary (Rosmarinus officinalis) leaves or their mixture on productive performance, carcass characteristics and antioxidant enzymes of rabbits reared under heat stress conditions. Agricultural Engineering International: CIGR Journal 19, 184-192.

Kanani R, Mirghelenj SA, Kianfar R and Janmohammadi H, 2020. Effects of different levels of green tea leaf powder on production performance and some blood parameters of laying hens. Journal of Animal Science Researches 30, 67-78.

Lee M, Lee H and Ryu P, 2001. Public health risks: Chemical and antibiotic residues-review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 14, 402-413.

Mahdavi S, Mehmannavaz Y, Nobakht A and Zakeri A, 2013. The effects of different amounts of Mentha pulegium L. on immune system performance of broiler chickens. The International Research Journal of Applied and Basic Sciences 4, 381-384.

Mirghelenj SA, Kianfar R, Janmohammadi H and Taghizadeh A, 2017a. Effect of different levels of grape pomace on egg production performance and egg internal quality during different keeping times and temperatures. Animal Production Research 6.

Mirghelenj SA, Kianfar R, Janmohammadi H and Taghizadeh A, 2017b. Effects of different levels of dried tomato pulp on production performance of layers and egg internal quality traits during different storage times and temperatures. Journal of Animal Science Researches 27, 73-85.

Mohammadi F, 2020. Chemical composition and dietary effects of pennyroyal and dill on biochemical, hematological, and oxidative stress biomarkers in broiler chickens. Journal of Agricultural Science and Technology 22, 401-413.

Nobakht A, Solimanzadeh E and Pishjangh J, 2011. Effects of varying levels of nettle (Urtica dioica L.), pennyroyal (Mentha pulegium L.) medicinal plants and enzyme on performance and egg traits of laying hens. Global Veterinaria 7, 491-496.

Nyachoti, C, Atkinson, J and Leeson, S, 1997. Sorghum tannins: a review. World's Poultry Science Journal 53, 5-21.

O'Neill J, 2014. Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the Health and Wealth of Nations. London, UK: World Health Organization.

Pappas A, Acamovic T, Sparks N, Surai P and McDevitt R, 2005. Effects of supplementing broiler breeder diets with organic selenium and polyunsaturated fatty acids on egg quality during storage. Poultry Science 84, 865-874.

Paymard J, Nobakht A, Mazlum F and Moghaddam M, 2013. The effects of different levels of dried aerial parts powder and extract of pennyroyal (Mentha pulegium) medicinal plant on performance, egg quality, blood biochemical and immunity parameters of laying hens. Iranian journal of applied animal science. 2013 Sep 1;3(3):589-94.

Qorbanpour M, Fahim T, Javandel F, Nosrati M, Paz E, Seidavi A, Ragni M, Laudadio V and Tufarelli V, 2018. Effect of dietary ginger (Zingiber officinale Roscoe) and multi-strain probiotic on growth and carcass traits, blood biochemistry, immune responses and intestinal microflora in broiler chickens. Animals 8, 117.

Rahimi S, Teymori Zadeh Z, Karimi Torshizi MA, Omidbaigi R and Rokni H, 2011. Effect of the three herbal extracts on growth performance, immune system, blood factors and intestinal selected bacterial population in broiler chickens. Journal of Agricultural Science and Technology 13, 527-539.

Ruberto G and Baratta MT, 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food chemistry 69, 167-174.

Saraswati T, Manalu W, Ekastuti D and Kusumorini N, 2013. The role of turmeric powder in lipid metabolism and its effect on quality of the first quail's egg. Journal of The Indonesian Tropical Animal Agriculture 38, 123-130.

SAS S, 2009. STAT user's guide, version 9.2. Cary, NC, USA: SAS Inst. Inc.

Silversides F, Scott TA, 2001. Effect of storage and layer age on quality of eggs from two lines of hens. Poultry Science 80, 1240-1245**.**

Skřivan M, Skřivanova V, Dlouha G, Branyikova I, Zachleder V and Vitova M, 2010. The use of selenium-enriched alga Scenedesmus quadricauda in a chicken diet. Czech Journal of Animal Science 55, 565-571.

Sparkman OD, 1997. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy Robert P. Adams. Journal of the American Society for Mass Spectrometry 8, 671.

Ventola CL, 2015. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. Pharmacy and therapeutics 40, 277.

Wahyono ND, and Utami MMD, 2018. A review of the poultry meat production industry for food safety in Indonesia. In Journal of Physics: conference series (Vol. 953, No. 1, p. 012125). IOP Publishing.

Yakhkeshi S, Rahimi S and Hemati MH, 2012. Effects of yarrow (Achillea millefolium L.), antibiotic and probiotic on performance, immune response, serum lipids and microbial population of broilers. Sid.ir, 799-810.

Effects of the different levels of pennyroyal powder (*mentha pulegium* L.) on production performance and quality traits of the eggs maintained under different storage conditions in old laying hen

A Mosayyeb Zadeh[1], S A Mirghelenj[2*], P Hasanlou[3], H Shakouri Alishah[3]

Received: June 7, 2021 Accepted: January 1, 2022

[1] Respectively, PhD and MSc Student of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Iran.
[2]Assistant Professor of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Iran.
[3] Student of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Iran.
[*]Corresponding Author: Email: a.mirghelenj@urmia.ac.ir

پژوهش‌های علوم دامی Animal Science Research
Journal of Animal Science/vol.32 No.4/ 2022/pp 75-89
https://animalscience.tabrizu.ac.ir
OPEN ACCESS

© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)
DOI: 10.22034/AS.2022.46436.1618

Introduction: Increased concerns regarding antibiotic resistance due to increased growth-promoting antibiotic inclusion in animal feed over the therapeutic dosage have been made scientists look for a proper alternative with similar benefits and without negative impacts on animal and human communities. Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) has been considered as a possible alternative for both antibiotics and synthetic antioxidants (Mohammadi, 2020). Although few studies have investigated the effects of this herbal plant on the production performance of laying hens and quality traits of eggs stored under different environmental conditions and storage times (Nobakht *et al.*, 2011, Paymard *et al.*, 2013), previous studies have been reported confusing information in this case (Aydın and Bölükbaşı, 2020). Most of these studies have reported reduced egg production due to the supplementation of pennyroyal powder to laying hens' diet. Also, it has been reported that pennyroyal supplementation has less or no impact on egg quality traits. However, it has been suggested that pennyroyal might have strong antioxidant properties due to its composition of essential oils and/or phenolic compounds, such as pulegone as a dominant compound, which may affect the quality traits of eggs, especially those stored for a long period of time (Ruberto and Baratta, 2000).
Material and methods: In this experiment, one-hundred and twenty laying hens (Hy-line W36) with 53 weeks of age were provided farm the nearest commercial layer farm and distributed in three treatments, four replicate and eight birds per replicate with similar body weights (±5%) on a completely randomized design. Experimental treatments include 1) control diet (without pennyroyal supplementation), 2) 0.5%, and 3) 1% pennyroyal supplementation. The aerial parts of the pennyroyal were purchased fresh from a local store in West Azerbaijan, and their essential oil contents were measured by GC-mass spectrometry after air-drying and grinding. Chemical composition analysis has indicated that pulegone was the dominant component of the pennyroyal powder used in this study (17.11%). The present study consisted of two experiments; the first one for evaluating the production performance and egg quality traits, and the second one for evaluating the internal quality traits of the eggs stored under different storage times (7 or 30 days) and temperatures (4 or 25°C). Experimental diets based on the corn-soybean meal were formulated according to the nutritional recommendations of the Hy-line W36 strain and fed for eight weeks. The egg numbers and mean egg weight were

recorded daily, and the feed conversion ratio, feed intake, and egg mass were calculated weekly. Two eggs were collected from each replicate to evaluate their quality traits at both experiments.

Results and discussion: The results of the present study indicated that pennyroyal supplementation has significantly reduced egg production and egg mass, and increased FCR ($P<0.05$). These findings are in agreement with the previous studies (Arjomandi *et al.*, 2011, Nobakht *et al.*, 2011, Paymard *et al.*, 2013). According to the findings of the present study and previous investigations, the negative impacts of the pennyroyal supplementation might be due to the high content of pulegone (in this study 17.11%), which converts to menthofuran (a hepatotoxic composition) after being metabolized. Furthermore, pennyroyal supplementation significantly reduced the Haugh unit and increased albumen pH ($P<0.05$). These findings were in agreement with the study of Paymard et al. (2013) and disagreement with the other studies (Arjomandi *et al.*, 2011, Nobakht *et al.*, 2011); Since they have seen no impact of pennyroyal supplementation of egg quality traits. The probable reason for these negative impacts might be explained by the previous studies that investigated the other antioxidant alternatives, which have stated that polyphenolic compounds or essential oils of herbal plants could increase the albumen pH and therefore weakens the protein bonds between lysozyme and ovomucin of albumen (Ahn et al., 1999, Arpášová et al., 2014). Evaluation of the internal quality traits of the eggs stored under different times and temperatures indicated that the main effects of pennyroyal supplementation were not significant in desired parameters; however, the main effects of times on HU and ApH, and the main effects of different temperatures on YI, HU, ApH, and YH were significant ($P<0.05$). Additionally, significant interactions existed between pennyroyal levels and storage times in HU, YI, and YH ($P<0.05$). Also, Significant interactions were reported between pennyroyal levels and storage temperatures in ApH and YpH ($P<0.05$). Furthermore, significant interactions existed between storage times and temperatures in HU and YP ($P<0.05$). Though, no significant interactions were reported between all three factors. Almost no study has been conducted to evaluate the effects of pennyroyal supplementation on the internal quality traits of eggs stored under different times and temperatures. Therefore, according to the previous studies, oxidation of lipids in the egg's vitelline membranes, over time, increases the transfer of ions between the albumen and the yolk, which in turn increases the pH and ultimately reduces the Hough unit (Silversides *et al.* 2001).

Conclusion: According to the findings of the present study, pennyroyal supplementation reduced production performance, egg quality traits, and internal quality traits of the stored eggs. Therefore, it is not recommended to use the pennyroyal powder supplementation in old laying hens' diet to improve production performance and egg quality traits.

Keywords: Antioxidant, egg quality trait, laying hen, pennyroyal, production performance