نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۳ شماره ۱/ سال۱۳۹۲

اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر قابلیت هضم ایلئومی و فعالیت آنزیمی سرم خون جوجه های گوشتی

روح الله نورمحمدی*[۱]، سید محمد حسینی[۲] و معصومه وکیلی[۳]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۱۲

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند

[۲] استادیار گروه علوم دامی دانشگاه بیرجند

[۳] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

*مسئول مکاتبه: Email: nourmohammadi.61@gmail.com

چکیده

به منظور بررسی اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر قابلیت هضم ایلئومی برخی مواد مغذی، ابقای مواد معدنی پلاسما، عملکرد رشد، فعالیت آنزیمی و برخی از فراسنجه های سرم خون جوجه های گوشتی، تعداد ۲۷۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ در یک آزمایش فاکتوریل ۳×۳ با سه سطح اسید سیتریک (۰، ۳ و ٦ درصد) و سه سطح آنزیم فیتاز (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۹ جیره آزمایشی، سه تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که مکمل نمودن جیره ها با فیتاز میکروبی، افزایش وزن بدن، مصرف خوراک، قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی، غلظت کلسترول، تری گلیسرید و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز سرم و غلظت فسفر پلاسما را به طور معنی داری ($P<۰/۰۵$) افزایش داد، اما موجب کاهش ($P<۰/۰۵$) غلظت آلکالین فسفاتاز، آلانین آمینوترانسفراز و لاکتات دهیدروژناز سرم و غلظت آهن پلاسما گردید. همچنین نتایج نشان دهنده آن بود که افزودن ۳ درصد اسید سیتریک، به طور معنی داری ($P<۰/۰۵$) سبب افزایش قابلیت هضم ایلئومی پروتئین، انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری و فسفر کل گردید. استفاده از ٦ درصد اسید سیتریک در جیره های غذایی موجب کاهش معنی دار ($P<۰/۰۱$) صفات عملکردی، قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی (به استثنای کلسیم)، غلظت کلسترول و آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم، غلظت فسفر و آهن پلاسما گردید و هم زمان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز سرم را به طور معنی داری ($P<۰/۰۵$) افزایش داد. لذا یافته های آزمایش حاضر بیان گر آن است که جیره های حاوی ۳ درصد اسید سیتریک مکمل شده با ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز موجب بهبود شاخص های عملکرد، افزایش قابلیت هضم مواد مغذی و ابقای مواد معدنی در جوجه های گوشتی گردید.

واژه‌های کلیدی: اسید سیتریک، جوجه گوشتی، فراسنجه های خونی، فیتاز میکروبی، قابلیت هضم ایلئومی

Effect of citric acid and microbial phytase on ileal digestibility and serum enzyme activity in blood of broiler chickens

R Nourmohammadi[1*], SM Hosseini[2] and M Vakili[3]

Received: January 2, 2011 Accepted: September 2, 2012
[1]Graduated MSc Student, Department of Animal Science, University of Birjand, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Animal Science, University of Birjand, Iran
[3]MSc Student, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[*]Corresponding author: E mail:Nourmohammadi.61@gmail.com

Abstract
An experiment was conducted to study the effect of microbial phytase (MP) supplementation and citric acid (CA) on some ileal nutrients digestibility, plasma minerals retention, growth performance, serum enzyme activity and some serum metabolites of broiler chicks. Two hundred and seventy male broiler chicks (Ross 308) were used in a randomized complete block design with factorial arrangement of 3×3, three levels of CA (0, 3 and 6%) and three levels of MP (0, 500 and 1000 phytase IU/kg). The present results indicated that supplementation of diets with MP caused significant increase (P<0.05) in body weight gain, feed intake, ileal nutrients digestibility, plasma concentration of cholesterol, triglycerides and phosphorus and also Aspartate Aminotransferase activity; however, this factor caused significant decrease (P<0.05) in Alkaline Phosphatase, Lactate Dehydrogenase and Alanine Aminotransferase enzyme activities and plasma Fe concentration. Also, our results showed that addition of 3% CA caused significant increase (P<0.05) in ileal digestibility of crude protein, apparent metabolizable energy and total phosphorus. Using the highest level of dietary CA decreased (P<0.01) the growth performance parameters, ileal digestibility of nutrients (except in the case of Ca), plasma concentration of cholesterol, P and Fe and also alkaline phosphatase enzyme activity, however this level of CA increased (P<0.05) lactate dehydrogenase activity. In conclusion, the present findings demonstrated that administration of diets with 3% CA and 1000 U/kg MP improved ileal nutrients digestibility, minerals retention and growth performance of broiler chickens.

Key Words: Broiler chicks, Blood parameters, Citric acid, Ileal digestibility, Microbial phytase

مقدمه

گیاهان اصلی ترین ماده خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور هستند. تقریباً دو سوم فسفر گیاهان به شکل فیتات و غیر قابل استفاده توسط طیور می باشد. روش‌های فیزیکی مانند شکستن، خشک کردن، جوانه زنی، مکمل نمودن جیره ها با آنزیم فیتاز برون زادی و ویتامین D روش هایی مؤثر در هیدورلیز فیتاز می‌باشند (جانبلود و همکاران ۱۹۹۱). با این حال، فیتات قابلیت دسترسی به مواد مغذی ضروری را نیز محدود می نماید. فیتات نامحلول، کلسیم و فسفر را غیر قابل دسترس می سازد زیرا اسید فایتیک (فیتات) دارای قابلیت باند شدن با کاتیونهای دو و سه ظرفیتی و تشکیل نمک های نامحلول از آنها می باشد. فیتات به عناصر فوق متصل گردیده و در شرایط pH روده رسوب کرده و این عناصر را برای جذب غیر فعال می نماید. علاوه بر قابلیت باند شدن فیتات با کاتیون ها، این ماده قابلیت اتصال به پروتئین را داشته و به این ترتیب باعث تشکیل یک ترکیب سه تایی پروتئین- کاتیون- فیتات می شود و عمل آنزیم های پروتئولیتیک از قبیل پپسین و تریپسین را در دستگاه گوارش محدود می کند. در شرایط pH دستگاه گوارش

پرنده، گروه های فسفر اسید فایتیک ممکن است با گروه های آمینی اسیدهای آمینه، از قبیل لیزین، هیستیدین و آرژنین باند شده و قابلیت استفاده آنها را کاهش دهد. همچنین طی بررسی های متعدد انجام شده، نشاسته نیز توسط اسید فایتیک باند شده و در نتیجه انرژی قابل سوخت و ساز جیره کاهش می یابد. بنابراین pH دستگاه گوارش تأثیر مهمی بر بازده عمل فیتاز دارد. محققان متعددی نشان داده اند که اسید سیتریک به تنهایی یا همراه با فیتاز، هیدرولیز فیتات را در جوجه های گوشتی افزایش می دهد (برنز و همکاران ۲۰۰۳). فعالیت فیتاز میکروبی با تغییر pH بخش فوقانی لوله گوارشی توسط افزودن اسید سیتریک بهبود می یابد (سیمونز و همکاران ۱۹۹۰). در جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت–سویا افزودن اسید سیتریک به جیره، می تواند دفسفریلاسیون فیتات را افزایش دهد (زیلا و همکاران ۲۰۰۰). در جوجه های گوشتی، نشان داده شده است که قابلیت هضم فسفر به دلیل وجود اثرات همکوشی بین فیتاز میکروبی و اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک افزایش می باید (لی و استال ۲۰۰۵). کمی و همکاران (۱۹۹۸) نتیجه گیری کردند که بازده عمل فیتاز با منبع گیاهی یا میکروبی، در تجزیه فیتات، و تا حد زیادی به شرایط pH معده و زمان ماندگاری در آن بستگی دارد. بنابراین به نظر می رسد که میان اسید سیتریک و فیتاز میکروبی اثر همکوشی وجود داشته باشد. این مطالعه به منظور بررسی اثر اسید سیتریک و آنزیم فیتاز میکروبی و اثر متقابل این دو فاکتور بر عملکرد رشد، قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی و برخی از فراسنجه های خونی جوجه های گوشتی انجام گردید.

مواد و روش ها

مواد خوراکی، حیوانات و شرایط پرورش

در این تحقیق ۲۷۰ قطعه جوجه گوشتی نر سویه راس ۳۰۸ که با روش تفاوت در رشد پرها تعیین جنسیت شده بودند در قالب یک طرح بلوک کامل تصادفی و به صورت آزمایش فاکتوریل ۳×۳ با ۹ جیره غذایی، ۳ تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار استفاده شد. آنزیم مورد استفاده ناتافوس محصولی از میکروارگانیسم آسپرژیلوس نیجر بود و اسید سیتریک[1] مورد استفاده در این پژوهش با خلوص ۹۹/۵ درصد بود. جوجه ها تا سن ٦ روزگی با جیره استاندارد دارای ۲۳ درصد پروتئین تغذیه شدند و جیره های غذایی برای مراحل رشد (۷ تا ۲۱ روزگی) و پایانی (۲۲ تا ٤۲ روزگی) با سه سطح از اسید سیتریک (۰، ۳۰ و ٦۰ گرم در کیلوگرم از جیره) و سه سطح از آنزیم فیتاز میکروبی (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ واحد فعال در هر کیلوگرم از جیره) تهیه گردیدند (جدول ۱). جیره ها بر پایه ذرت–کنجاله سویا با سطوح یکسان پروتئین، انرژی، مواد معدنی و اسیدهای آمینه بر اساس توصیه انجمن ملی تحقیقات NRC (۱۹۹٤) تنظیم شدند. جیره های غذایی شامل: ۱) جیره پایه (بدون اسید سیتریک و آنزیم فیتاز) ۲) جیره پایه+ ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز ۳) جیره پایه+۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز ٤) جیره پایه+ ۳٪ اسید سیتریک ۵) جیره پایه+ ۳ درصد اسید سیتریک+۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز ٦) جیره پایه+ ۳ درصد اسید سیتریک+۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز ۷) جیره پایه+ ٦ درصد اسید سیتریک ۸) جیره پایه+ ٦ درصد اسید سیتریک+۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز ۹) جیره پایه+ ٦ درصد اسید سیتریک+۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز بودند. در کل دورهٔ آزمایش آب و خوراک بطور آزاد در دسترس پرندگان قرار گرفت و برای تأمین روشنایی واحد های آزمایشی، از لامپ های ٤۰ واتی و بطور شبانه روز استفاده شد.

[1] Sigma-Aldrich Quimica, Tres Cantos, Spain

جدول شماره ۱- ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی جیره پایه در مراحل رشد (۷-۲۱ روزگی) و پایانی (۲۲-۴۲ روزگی)

اجزای خوراک	جیره رشد	جیره پایانی
ذرت	۵۷/۰۰	۵۸/۶۰
کنجاله سویا	۳۳/۱۰	۳۰/۰۰
پودر ماهی	۳/۴۰	۳/۵۰
روغن سویا	۲/۰۰	۳/۵۰
دی کلسیم فسفات	۱/۵۵	۱/۱۰
پودر صدف	۱/۰۳	۱/۱۸
دی ال- متیونین	۰/۰۱	۰/۰۱
نمک طعام	۰/۲۶	۰/۲۶
شن	۰/۶۵	۰/۸۵
مکمل مواد معدنی[۱]	۰/۵۰	۰/۵۰
مکمل ویتامینی[۲]	۰/۵۰	۰/۵۰
ترکیب شیمیایی جیره ها		
انرژی قابل متابولیسم(Kcal/kg)	۲۹۱۰	۳۰۳۰
پروتئین خام (٪)	۲۰/۱۰	۱۹/۰۰
چربی خام (٪)	۴/۶۰	۶/۱۴
کلسیم (٪)	۰/۹۵	۰/۹۰
فسفر کل (٪)	۱/۲۳	۱/۰۶
فسفر غیرفیتاتی (٪)	۰/۴۵	۰/۳۶
متیونین	۰/۵۰	۰/۳۸
لیزین	۱/۱۰	۱/۰۰
متیونین+سیستئین	۰/۸۳	۰/۷۱

[۱]مکمل مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم جیره: منگنز ۵۵ میلی گرم، روی ۵۰ میلی گرم، آهن ۸۰ میلی گرم، مس ۵ میلی گرم، سلنیوم ۰/۱ میلی گرم، ید ۰/۱۸ میلی گرم.

[۲]مکمل ویتامینی به ازای هرکیلوگرم جیره: رتینول ۲/۵ میلی گرم، کوله کلسیفرول ۲۵ میکروگرم، توکوفرول ۷/۳۴ میلی گرم، منادیون ۱/۱ میلی گرم، سیانوکوبالامین ۱۱/۵ میکروگرم، ریبوفلاوین ۵/۵ میلی گرم، پنتوتنات ۱۱ میلی گرم، نیاسین ۵۳/۳ میلی گرم، کولین کلراید ۱/۰۲۰ میلی گرم، اسید فولیک ۰/۷۵ میلی گرم، بیوتین ۰/۲۵ میلی گرم.

صفات مورد مطالعه و جمع آوری نمونه ها

صفات مربوط به عملکرد پرندگان شامل مصرف خوراک، وزن بدن، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک، قابلیت هضم ایلئومی برخی از مواد مغذی (پروتئین خام، انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری، کلسیم و فسفر کل) و برخی فراسنجه های خونی (فعالیت آنزیمی و غلظت برخی متابولیت های سرم و غلظت مواد معدنی پلاسما) اندازه گیری شدند. وزن بدن و مصرف خوراک جوجه ها به صورت هفتگی ثبت گردید و افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. برای اندازه گیری غلظت مواد معدنی پلاسما شامل کلسیم، فسفر، منیزیوم، آهن و روی، غلظت برخی متابولیت های سرم شامل اوره، کلسترول، تری گلیسریدها و پروتئین کل و هم چنین فعالیت آنزیمی سرم شامل آلکالین فسفاتاز (ALP)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST) و لاکتات دهیدروژناز (LDH)، در سن ۴۲ روزگی و پس از کشتار جوجه ها، نمونه های خونی (حدود ۱۰ میلی لیتر) جمع آوری شد و با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به

مدت ۱۵ دقیقه، جداسازی و تا زمان آنالیزهای مورد نظر در داخل فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. نمونه های خون با استفاده از کیت های شرکت زیست شیمی و با روش اسپکتروفتومتری مورد آنالیز قرار گرفت. فعالیت آنزیمی سرم و غلظت مواد معدنی پلاسما با سیستم شیمیایی بایر[1] اندازه گیری شدند. جهت اندازه گیری قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی، از روش غیر مستقیم با استفاده از اکسید تیتانیوم (TiO_2) به عنوان نشانگر خارجی استفاده گردید. در سن ۳۰ روزگی به جیره پایانی جوجه ها به میزان ۰/۱ درصد اکسید تیتانیوم به عنوان معرف اضافه شد و به مدت ۵ روز در اختیار جوجه ها قرار گرفت. در سن ۳۵ روزگی ۳ قطعه جوجه از هر تکرار انتخاب و به روش قطع گردنی کشتار شدند و محتویات ایلئومی آنها از حد فاصل زائده مکل تا دریچهٔ ایلئوسکال جمع آوری شد. میزان اکسید تیتانیوم در نمونه های خوراک و محتویات ایلئوم با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید. برای تعیین میزان کلسیم و فسفر کل در خوراک و محتویات ایلئوم، به ترتیب از روش رسوب کلسیم به صورت اکسالات کلسیم و اسپکتروفتومتری استفاده شد. همچنین برای محاسبه قابلیت هضم پروتئین خام، نمونه های خوراک و ایلئوم با استفاده از روش کجلدال[2] و انرژی خام رها شده با استفاده از سوزاندن نمونه ها در بمب کالریمتر آدیباتیک محاسبه شد و قابلیت هضم انرژی قابل متابولیسم ظاهری با روش منگ و اسلومینسکی (۲۰۰۵) تعیین گردید:

$$AME_{(kcal/kg)} = GE_{diet} - [GE_{digesta} \times (M_{diet}/M_{digesta})]$$

که در آن:

$AME_{(kcal/kg)}$: انرژی قابل متابولیسم ظاهری (کیلوکالری در کیلوگرم)، $GE_{diet/digesta}$: انرژی خام جیره و ماده هضمی، M_{diet}: درصد معرف در جیره و $M_{digesta}$: درصد معرف در ماده هضمی

آنالیز آماری

یافته های به دست آمده توسط نرم افزار SAS (۲۰۰۶) تجزیه و تحلیل گردیدند. آنالیز آماری مشاهداتی که یک بار در طول آزمایش اندازه گیری شدند با استفاده از رویه ی مدل خطی عمومی (GLM) انجام شد. با توجه به اینکه شاخص های مصرف خوراک، وزن هفتگی، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی در طول دوره آزمایش چندین بار اندازه گیری شدند، داده های مربوط به این صفات با دو اثر ثابت، همراه با اثر متقابل بین آنها به روش مشاهدات تکرار دار در طول زمان و با استفاده از رویه ی مدل مختلط (Mixed) مورد آنالیز قرار گرفت. میانگین صفات مورد مطالعه توسط آزمون توکی-کرامر مقایسه شد.

نتایج و بحث

متابولیت های سرم خون

اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر فعالیت آنزیمی و برخی از فاکتورهای سرم خون در جدول ۲ آمده است. بر اساس نتایج به دست آمده، اسید سیتریک بر غلظت اوره، تری گلیسرید و پروتئین کل سرم اثر معنی داری نداشت اما موجب کاهش معنی دار ($P<0/05$) غلظت کلسترول گردید. آنزیم فیتاز موجب افزایش غلظت کلسترول ($P<0/05$) و تری گلیسرید ($P<0/01$) شد اما بر غلظت اوره و پروتئین کل سرم، اثر معنی داری نداشت. ماندال و همکاران (۲۰۰۷) با افزودن آنزیم فیتاز نشان دادند که پروتئین کل سرم خون جوجه های گوشتی تحت تأثیر قرار می گیرد. این محققان از نتایج خود دریافتند که آنزیم فیتاز موجب کاهش غیر معنی دار پروتئین کل و افزایش غیر معنی دار کلسترول سرم خون گردید که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. در تأیید نتایج تحقیق حاضر، وایوروس و همکاران (۲۰۰۲) و نورمحمدی و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثر فیتاز میکروبی بر فراسنجه های خونی جوجه های گوشتی،

[1] ADVIA 1650 chemistry system of Bayer
[2] Kjeltec Auto Analyser 1030

نشان دادند که افزودن ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز موجب افزایش عددی میزان پروتئین کل سرم شده که معنی دار نبوده است. عبدالفتاح و همکاران (۲۰۰۸) با افزودن سطوح مختلف اسید سیتریک (۰، ۱/۵ و ۳ درصد) در غلظت پروتئین کل افزایش غیر معنی دار و در غلظت متابولیت های لیپیدی (کلسترول و تری‌گلیسرید) کاهش معنی دار مشاهده نمودند. کاهش غلظت پروتئین کل سرم می تواند به علت کاهش سنتز پروتئین به دلیل اختلالات کبدی، جذب نامطلوب در رودۀ کوچک یا افزایش هدر روی پروتئین به علت مشکلات کلیوی و یا سوء تغذیه باشد (زانتوپ ۱۹۹۷).

فعالیت آنزیمی سرم

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسید سیتریک موجب کاهش فعالیت آنزیم ALP (P<۰/۰۵) و افزایش فعالیت آنزیم LDH (P<۰/۰۱) گردید اما اثر معنی داری در فعالیت آنزیم های AST و ALT نداشت (جدول ۲). مکمل نمودن جیره ها با فیتاز میکروبی موجب کاهش فعالیت آنزیم های ALP، ALT و LDH (P<۰/۰۱) و افزایش فعالیت آنزیم AST (P<۰/۰۱) گردید. هوف و همکاران (۱۹۹۸) نیز ضمن دستیابی به نتایج مشابه بیان کردند که کاهش فعالیت ALP به دنبال افزودن فیتاز میکروبی به جیره ها، احتمالاً به دلیل افزایش زیست فراهمی فسفر می باشد. ALP نماینده چندین ایزوآنزیم از نوع متالوآنزیم های دارای روی (Zn) می باشد که توسط سلول های برخی از اندام ها مانند کبد، استخوان، ماهیچه، روده کوچک و کلیه ها ساخته می شوند (موس ۱۹۸۲). بر خلاف این نتایج برنز و همکاران (۲۰۰۳) طی آزمایشی گزارش نمودند که کاهش سطح فسفر جیره ها، فعالیت آنزیم ALP را افزایش می دهد. روبرسون و ادواردز (۱۹۹٤) نشان دادند که فعالیت ALP در خون جوجه های گوشتی تحت تأثیر افزودن آنزیم فیتاز قرار نگرفت. احتمالاً تفاوت روش های اندازه گیری فعالیت ایزوآنزیم های تشکیل دهنده ALP سرم باعث به دست آمدن این نتایج متفاوت شده است. در این رابطه کمپل و کولز (۱۹۸٦) گزارش نمودند که ایزوآنزیم های روده ای بزرگترین کمک را به افزایش فعالیت آنزیم ALP سرم در پرندگان می کنند. در مقابل زانتوپ (۱۹۹۷) نشان داد که افزایش ALP سرم بیشتر به بیماری های کبدی باز می گردد. کاهش سطح فسفر قابل دسترس خون به هر دلیل، فعالیت آنزیم ALP را افزایش می دهد. بر همین منوال وایوروس و همکاران (۲۰۰۲) و برنز و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که کاهش سطح فسفر قابل دسترس جیره، موجب افزایش فعالیت آنزیم ALP می گردد. آنزیم فیتاز و اسید سیتریک بواسطه ی مکانیسم مذکور موجب تسهیل در رها سازی فسفر فیتاتی و هم چنین افزایش غلظت فسفر پلاسما (در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد) و در نتیجه کاهش فعالیت ALP می گردد. بر طبق مطالعه وایوروس و همکاران (۲۰۰۲) افزودن آنزیم فیتاز بر روی فعالیت آنزیمی سرم خون جوجه های گوشتی اثر دارد. این محققان دریافتند که افزودن ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز موجب کاهش معنی دار فعالیت LDH و ALT و همچنین افزایش معنی دار AST می گردد.

هرچند بالارفتن فعالیت آنزیم های مورد بررسی در آزمایش حاضر عموماً نشان دهندۀ آسیب های بافت ماهیچه یا کبد می باشد، اما سطح فعالیت ALT در تمام بافت های بدن جوجه های گوشتی پایین بوده (بوگین و اسرائیلی ۱۹۷٦) و لذا ارزش تشخیصی میزان فعالیت این آنزیم ها در سرم خون پرندگان کم است. در چندین مورد مشاهده شده که فعالیت ALT سرم خون پرندگانی که آسیب های شدید کبدی داشتند، طبیعی بوده است. علاوه بر این ٥ ایزو آنزیم از LDH در پرندگان وجود دارد که هر گونه آسیب بافتی در ماهیچه اسکلتی، ماهیچه قلبی، کبد، کلیه، استخوان و سلول های قرمز خون رخ دهد موجب افزایش فعالیت آنزیم LDH می‌گردد (زانتوپ، ۱۹۹۷). همچنین، زانتوپ (۱۹۹۷) دریافت که افزایش فعالیت LDH ممکن است به بیماری

های کبدی ارتباط داشته باشد زیرا این آنزیم به سرعت با پیشرفت بیماری افزایش می یابد. بر طبق نتایج این مطالعه، افزایش غلظت آنزیم LDH سرم خون جوجه های تغذیه شده با جیرهٔ حاوی ٦ درصد اسید سیتریک، بیانگر وارد آمدن آسیب های کلیوی، وجود کم خونی (کاهش غلظت آهن در پلاسما) یا بروز ترومای عضلانی بود، در حالی که ظاهراً پرندگان تغذیه شده با فیتاز میکروبی سالم بوده اند.

جدول ۲- اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر فعالیت آنزیمی و غلظت برخی فراسنجه های سرم خون جوجه های گوشتی

اثرات متقابل		فراسنجه های سرم				فعالیت آنزیمی سرم			
اسید سیتریک (٪)	فیتاز (FTU)	اوره (mg/dl)	کلسترول (mg/dl)	تری گلیسرید (mg/dl)	پروتئین کل (g/dl)	ALP (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	LDH (U/L)
۰	۰	۲/۳۳	۱۳٤/۱۷	٤۱/٦۷	۲/۱۰	۳۲۳۵/٦۷^{a}	۲۱۵/۱۷	۲/۱۳^{a}	۲۰۱۸/٦۷^{bcd}
۰	۵۰۰	۲/۱٦	۱۳٦/۱۷	٤۲/٦۷	۲/۱۳	۲۵۲۱/٦۷^{bc}	۲۵۲/۳۳	۱/٦۸^{bcd}	۱۸٤۰/۱۷^{bcd}
۰	۱۰۰۰	۲/۰۰	۱۳۹/۰۰	٤۵/۸۳	۲/۲۱	۲٤٦۳/۰۰^{bc}	۲۷۳/۵۰	۱/٤٤^{cd}	۱۷۷۰/٦۷^{cd}
۳	۰	۲/۳۳	۱۳۳/۵۰	۳٦/۱۷	۲/۲۵	۳۰۵٦/۳۳^{a}	۲۲۳/۳۳	۱/۸۳^{abc}	۲۱۹۵/۱۷^{ab}
۳	۵۰۰	۲/٦۷	۱۳۹/۸۳	٤۷/۱۷	۲/۱۷	۲٤۱۰/٦۷^{c}	۲۵۷/٦۷	۱/٦۰^{cd}	۱٦۹۸/۰۰^{de}
۳	۱۰۰۰	۲/۳۳	۱٤۰/۱۷	٤۷/۸۳	۲/۱۷	۲۳۳٤/٦۷^{c}	۲۷۷/۵۰	۱/٤۳^{d}	۱٦۰۱/۸۳^{e}
٦	۰	۲/۸۳	۱۲٤/۵۰	۳۸/۵۰	۱/۹۸	۲۹۰۸/٦۷^{ab}	۲۲۸/٦۷	۲/۰۷^{ab}	۲٤۸٦/۸۳^{a}
٦	۵۰۰	۲/٦۷	۱۳۱/۰۰	٤٤/۳۳	۲/۱۷	۲۵٤۷/۰۰^{bc}	۲٤۸/٦۷	۱/٤۸^{cd}	۲۱۱۱/۳۳^{bc}
٦	۱۰۰۰	۳/۱٦	۱۳۳/٦۷	٤۷/۱۷	۲/۱۷	۲۱۰۲/٦۷^{c}	۲٦۹/۳۳	۱/۲۵^{d}	۱۹۵۵/۰۰^{bcd}
اثرات اصلی									
اسید سیتریک (٪)									
۰		۲/۲	۱۳٦/٤٤^{ab}	٤۳/٤	۲/۱	۲۷٤۰/۱^{a}	۲٤۷/۰	۱/۷	۱۸۷٦/۵^{b}
۳		۲/٤	۱۳۷/۸۳^{a}	٤۳/۷	۲/۲	۲٦۰۰/۵^{ab}	۲۵۲/۸	۱/٦	۱۸۳۱/۷^{b}
٦		۲/۹	۱۲۹/۷۲^{b}	٤۳/۳	۲/۱	۲۵۱۹/٤^{b}	۲٤۸/۹	۱/٦	۲۱۸٤/٤^{a}
فیتاز میکروبی (FTU)									
۰		۲/۵	۱۳۰/۷^{b}	۳۸/۸^{b}	۲/۱	۳۰٦٦/۹^{a}	۲۲۲/٤^{b}	۲/۰^{a}	۲۲۳۳/۵^{a}
۵۰۰		۲/۵	۱۳۵/۷^{ab}	٤٤/۷^{a}	۲/۱	۲٤۹۳/۱^{b}	۲۵۲/۹^{a}	۱/٦^{b}	۱۸۸۳/۲^{b}
۱۰۰۰		۲/۵	۱۳۷/٦^{a}	٤٦/۹^{a}	۲/۲	۲۳۰۰/۱^{c}	۲۷۳/٤^{a}	۱/٤^{b}	۱۷۷۵/۸^{b}
SEM		۰/۳٤	۱/۸۹	۱/۵۱	۰/۰۷	۵۲/٤۳	۷/٦۷	۰/۰۵	٤۱/۱
منبع تغییرات		سطح احتمال							
اسید سیتریک		NS	۰/۰۱۷۱	NS	NS	۰/۰۲۷٦	NS	NS	۰/۰۰۰۱
فیتاز		NS	۰/۰٤۹۸	۰/۰۰٤۲	NS	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
اسید سیتریک × فیتاز		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (P<۰/۰۵)

مواد معدنی پلاسما

اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر غلظت مواد معدنی پلاسما در جدول ۳ آمده است. بر اساس نتایج بدست آمده، اسید سیتریک موجب کاهش غلظت فسفر(P<۰/۰۱) و آهن (P<۰/۰۵) گردید، اما اثر معنی داری بر غلظت مواد معدنی کلسیم، روی و منیزیوم نداشت. مکمل نمودن جیره ها با آنزیم فیتاز سبب افزایش غظت فسفر پلاسما (P<۰/۰۱) و کاهش غلظت آهن (P<۰/۰۱) گردید در

حالی که اثری بر غلظت کلسیم، منیزیوم و روی سرمی نداشت. تیلور و داک (۱۹۸٤) پیشنهاد کردند که جیره های غذایی دارای فسفرکم موجب تشدید یونیزه شدن کلسیم در پلاسما شده، چرا که این امر سبب افزایش در آزاد سازی هورمون پاراتیروئید می گردد. بنابراین، به دنبال اثر بازدارنده هورمون پاراتیروئید بر لوله های کلیوی، بازجذب فسفات کاهش یافته و متعاقب آن، طی مصرف خوراک با جیره‌های فسفر کم، جذب کلسیم از لولهٔ گوارشی افزایش می یابد. افزایش غلظت کلسیم و فسفر خون با افزودن اسیدهای آلی ممکن است نشان دهنده پایین آمدن pH دستگاه گوارشی توسط این اسیدها باشد که موجب افزایش جذب برخی از مواد معدنی از لولهٔ گوارشی به داخل جریان خون می گردد (عبدالفتاح و همکاران ۲۰۰۸). برینک و همکاران (۱۹۹۱) عدم همبستگی میان ابقای منیزیوم و غلظت این ماده معدنی در پلاسمای خون موش های صحرایی را مشاهده نمودند. عدم پاسخ غلظت ماده معدنی روی پلاسما به اثر افزودن آنزیم فیتاز توسط روبروسون و ادواردز (۱۹۹٤) و سباستین و همکاران (۱۹۹٦) در جوجه های گوشتی گزارش شده است. این محققان گزارش کرده اند که روی کافی در جیره ممکن است جوابگوی دلیل عدم اثر آنزیم فیتاز بر روی غلظت روی پلاسما باشد. برخی از محققان گزارش کرده اند که غلظت روی پلاسما، هنگام تغذیه جوجه ها با جیره های دارای روی ناکافی مکمل شده با آنزیم فیتاز، افزایش می یابد (پالایوف و همکاران ۱۹۹٤).

غلظت کلسیم و فسفر پلاسما به وسیلهٔ جذب از دستگاه گوارش، ذخیره و بازجذب از استخوان، همچنین دفع از طریق مدفوع و ادرار یا بازجذب از کلیه کنترل می شود و بدن تعادل کلسیم و فسفر را با اثرگذاری ویتامین D_3 و هورمون هایی مانند پاراتورمون و کلسی تونین بر روده کوچک، کلیه ها و استخوان تنظیم می کند (حسن آبادی و همکاران ۲۰۰۷). با وجود این به نظر می رسد مکانیزم های مذکور در مطالعه حاضر قادر به تأمین فسفر کافی برای ثابت نگهداشتن سطح این ماده معدنی در پلاسما، در هنگام استفاده از جیره های دارای سطوح مختلف اسید سیتریک و آنزیم فیتاز، نبوده است. تحت این شرایط اضافه کردن آنزیم فیتاز به جیره جوجه های گوشتی از طریق افزایش زیست فراهمی فسفر، جذب این ماده معدنی را افزایش داده و سبب افزایش سطح فسفر پلاسما گردیده که این نتایج مؤید اضافه وزن و ضریب تبدیل خوراک بهتر در تیمارهای دارای آنزیم فیتاز نسبت به تیمارهای بدون آنزیم بود. در مطالعه حاضر، ظاهراً اسید سیتریک توانسته است با اثر بر روی کمپلکس های چندگانه اسید فایتیک موجب آزاد سازی مواد معدنی شده و غلظت آنها را در پلاسما افزایش دهد.

قابلیت هضم ایلئومی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اثرات متقابل میان اسید سیتریک و فیتاز میکروبی برای قابلیت هضم ایلئومی پروتئین خام، کلسیم و فسفر کل معنی دار ($P<۰/۰۱$) بود (جدول ٤). استفاده از ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز در جیره های اسیدی شده با ۳ درصد اسید سیتریک سبب افزایش معنی دار قابلیت هضم ایلئومی انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری گردید اما سطوح مختلف فیتاز میکروبی در جیره های حاوی ٦ درصد اسید سیتریک اثر معنی داری نداشت. میانگین قابلیت هضم ایلئومی پروتئین خام، کلسیم و فسفر کل در جیره های حاوی ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز بالاتر از دو سطح دیگر آنزیم (۰ و ۵۰۰ واحد) برای تمامی سطوح اسید سیتریک بود. آنزیم فیتاز در بهبود قابلیت هضم پروتئین در پرندگان مؤثر بوده و میزان تأثیر آن نیز متغیر است. به نظر می رسد دلایل متغیر بودن قابلیت هضم پروتئین ها توسط آنزیم فیتاز عبارتند از: ۱-انتخاب یک نشانگر غیر متحرک که در فرآیندهای هضم مورد استفاده باشد ۲-تفاوت هایی که بین انواع پروتئین های تجزیه شده وجود دارد ۳- سطوح کلسیم و فسفر غیر فیتاتی و ٤- تعادل الکترولیتی جیره های غذایی (نورمحمدی و همکاران ۲۰۱۲). سنتنو

و همکاران (۲۰۰۷) همچنین در مطالعه خود دریافتند که افزودن سطوح مختلف اسید سیتریک (۲ و ۵ درصد) اثری بر قابلیت هضم پروتئین نداشت. این محققان نشان دادند که افزودن ۲ درصد اسید سیتریک به جیره ها موجب افزایش غیر معنی دار قابلیت هضم پروتئین شد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی ندارد. افزودن اسید های آلی مانند اسید سیتریک ممکن است تشکیل کمپلکس فیتات-پروتئین را با کیلات کردن کاتیون های آزاد کاهش دهد. فیتاز میکروبی بیشترین فعالیت را در محدوده pH ۲/۵ تا ۵/۵ (سیمونز و همکاران ۱۹۹۰) دارد. اسید سیتریک با کلسیم ترکیب شده و باند شدن آن را با فیتات کاهش می دهد و در نتیجه آمادگی فیتات به هیدرولیز توسط آنزیم افزایش می یابد.

جدول ۳- اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر غلظت برخی از مواد معدنی پلاسما

اثرات متقابل		کلسیم	فسفر	منیزیوم	آهن	روی
اسید سیتریک (٪)	فیتاز (FTU)	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)	(µg/dl)	(µg/dl)
۰	۰	۱۰/۲۰	۵/۰۸^{c}	۲/۲۰	۱۳۴۱/۱۷^{a}	۲۳۸/۸۳
۰	۵۰۰	۱۰/۰۸	۶/۱۷^{ab}	۲/۱۲	۱۲۱۰/۶۷^{ab}	۲۶۲/۸۳
۰	۱۰۰۰	۱۰/۰۴	۶/۷۹^{a}	۲/۰۹	۱۲۰۲/۳۳^{ab}	۲۴۷/۰۰
۳	۰	۱۰/۰۹	۵/۵۵^{bc}	۲/۱۴	۱۳۱۸/۳۳^{a}	۲۹۲/۵۰
۳	۵۰۰	۹/۹۸	۶/۳۲^{a}	۲/۰۷	۱۲۷۶/۳۳^{a}	۲۵۹/۰۰
۳	۱۰۰۰	۹/۷۷	۶/۶۲^{a}	۱/۹۲	۱۲۴۱/۰۰^{a}	۳۱۳/۶۷
۶	۰	۱۰/۱۱	۴/۹۲^{c}	۱/۹۴	۱۲۷۵/۱۷^{a}	۲۷۱/۳۳
۶	۵۰۰	۹/۹۷	۵/۳۲^{c}	۱/۹۲	۱۲۰۹/۰۰^{ab}	۲۸۷/۰۰
۶	۱۰۰۰	۹/۸۰	۶/۵۰^{a}	۱/۹۰	۹۵۶/۶۷^{b}	۲۵۸/۵۰
اثرات اصلی						
اسید سیتریک (٪)						
۰		۱۰/۱	۶/۰^{a}	۲/۱	۱۲۵۱/۴۹^{ab}	۲۴۹/۵
۳		۹/۹	۶/۲^{a}	۲/۰	۱۲۷۸/۵^{a}	۲۸۸/۴
۶		۱۰/۰	۵/۶^{b}	۱/۹	۱۱۴۶/۹^{b}	۲۷۲/۳
فیتاز میکروبی (FTU)						
۰		۱۰/۱	۵/۲^{c}	۲/۱	۱۳۱۱/۵^{a}	۲۶۷/۵
۵۰۰		۱۰/۰	۵/۹^{b}	۲/۰	۱۲۳۲/۰^{ab}	۲۶۹/۶
۱۰۰۰		۹/۹	۶/۶^{a}	۲/۰	۱۱۳۳/۳^{b}	۲۷۳/۰
SEM		۰/۱۳	۰/۰۸	۰/۰۶	۳۲/۰۵	۱۸/۸
منبع تغییرات		سطح احتمال				
اسید سیتریک		NS	۰/۰۰۰۴	NS	۰/۰۲۴۸	NS
فیتاز		NS	۰/۰۰۰۱	NS	۰/۰۰۴۴	NS
اسید سیتریک × فیتاز		NS	۰/۰۳۲۲	NS	NS	NS

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (P<۰/۰۵)

در طیور، افزایش بهره وری از انرژی با افزودن فیتاز تا حدودی به دلیل افزایش قابلیت هضم پروتئین است. همچنین فیتاز ممکن است در زمینه بهبود انرژی اثرات مستقلی داشته باشد. زیرا فیتات از طریق اتصال مستقیم به نشاسته یا پروتئین های متصل به گرانول های نشاسته و یا ممانعت از فعالیت آمیلاز به طور معکوس هضم نشاسته را تحت تأثیر قرار داده و جذب گلوکز را کاهش می دهد (سل و همکاران ۲۰۰۰). به علاوه، چنین تصور می شود که در مجرای روده کمپلکس کلسیم–فیتات، تشکیل صابون های فلزی را افزایش می دهد، در نتیجه سبب کاهش بهره وری از چربی های اشباع می گردد (راویندران و همکاران ۱۹۹۹). اگر این فرضیه ها درست باشد، احتمال دارد که مکانیسم هایی را در جهت افزایش بهره وری از انرژی به وسیلهٔ فیتاز مستقل از اثر آن بر پروتئین ارائه داد. علاوه بر موارد فوق، راویندران و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که فیتاز در گندم به روشی مشابه گلوکاناز برون زادی اثر می کند یعنی احتمالاً باعث تخریب دیوارهٔ سلولی و تشدید تماس بین آنزیم های هضمی و محتویات سلول ها می شود که این مورد قابل توجیه است، زیرا فیتات یکی از اجزای مرکزی دیواره سلولی گندم است، به این ترتیب سبب بهبود انرژی قابل سوخت و ساز ظاهری می گردد (راویندران و همکاران ۱۹۹۹).

احتمالاً اسید سیتریک با تأثیر بر کمپلکس فیتات–نشاسته موجب افزایش کارآیی آنزیم های هضمی مانند آمیلاز می شود. سیمونز و همکاران (۱۹۹۰) بیان کردند که آنزیم فیتاز، مورد استفاده قرار گرفتن کلسیم متصل به فیتات را در خوک و جوجه های گوشتی افزایش داد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. اسید فایتیک قادر به تشکیل کمپلکس های نامحلول با یون کلسیم بوده، در نتیجه فراهمی کلسیم را برای جذب روده ای کاهش داد. تحت این شرایط آنزیم فیتاز احتمالاً با آزاد کردن کلسیم از کمپلکس کلسیم–فیتات، قابلیت دسترسی هر دو بخش این کمپلکس (کلسیم و فسفر) را افزایش داد (سباستین و همکاران ۱۹۹۶). همچنین تصور شد که فیتاز با هیدرولیز فیتات و نیز جلوگیری از تشکیل کمپلکس های فوق باعث افزایش فراهمی و قابلیت هضم کلسیم در دستگاه گوارش طیور گردیده است.

نقطه مشترک نتایج اکثر تحقیقات انجام گرفته در مورد فیتاز میکروبی، تأثیر مثبت آن بر هضم و جذب فسفر فیتاتی است که نتیجه هیدرولیز فیتات توسط آنزیم فیتاز می باشد. نتایج تحقیق سباستین و همکاران (۱۹۹۶) که قابلیت هضم را به روش جمع آوری فضولات در جوجه های گوشتی ۲۱ روزه اندازه گیری کردند نشان داد که افزودن ۶۰۰ واحد فیتاز میکروبی به جیره، قابلیت هضم فسفر کل را ۱۳ درصد بهبود بخشید. در پژوهش دیلگر و همکاران (۲۰۰٤)، افزودن سطوح مختلف نوعی فیتاز میکروبی حاصل از باکتری اشرشیاکولی به جیره جوجه های گوشتی ۲۱ روزه، قابلیت هضم ظاهری ایلئومی فسفر را بهبود بخشید. این محققان پیشنهاد کردند که افزایش فراهمی فسفر در نتیجه هیدرولیز فیتات توسط فیتاز عامل بهبود قابلیت هضم فسفر و عملکرد جوجه ها در آزمایش مذکور بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزودن آنزیم فیتاز می توان مقادیر کمتری فسفر در جیره طیور استفاده نمود که به معنی صرفه اقتصادی بیشتر به منظور پیشگیری از آلودگی محیط زیست می باشد. در تأیید نتایج این مطالعه، زیلا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که در جوجه های گوشتی تغذیه شده با جیره بر پایه ذرت–سویا نیز، افزودن اسید سیتریک به جیره، دفسفریلاسیون فیتات را افزایش داد و اخیراً لیم و همکاران (۲۰۰۸) با افزودن اسید سیتریک به جیره پایه، دریافتند که اسیدهای آلی موجب ابقاء فسفر کل و افزایش قابلیت هضم ایلئومی این ماده معدنی می شود. به نظر می رسد اثرات اسیدهای آلی بر قابلیت استفاده فسفر فیتاتی ممکن است به دلیل تغییر pH لوله گوارشی باشد و علاوه بر آن موجب بهبود کارآیی آنزیم فیتاز در هیدرولیز فیتات می شود. چگونگی اثرات متقابل بین

اسیدهای آلی و فیتاز کاملاً مشخص نیست، ولی هان و همکارن (۱۹۹۸) دو احتمال را پیش بینی کردند: اول این که اسیدهای آلی ممکن است با افزایش قابلیت حل شدن فسفر در مواد هضمی و طولانی کردن زمان انتقال مواد هضمی در روده کوچک، جذب کل فسفر را افزایش دهند و دوم این که، احتمال دارد اسیدهای آلی با اسیدی کردن جیره و مواد هضمی محیط بهتری را از لحاظ pH برای عمل فیتاز فراهم نمایند.

جدول ۴- اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر قابلیت هضم ایلئومی برخی مواد مغذی

اثرات متقابل		پروتئین خام	انرژی قابل سوخت و	کلسیم	فسفر کل
اسید سیتریک (٪)	فیتاز (FTU)	(٪)	ساز ظاهری (kcal/kg)	(٪)	(٪)
۰	۰	۸۱/۵۷^{c}	۸۸/۲۵^{de}	۵۲/۰۲^{e}	۳۵/۰۸^{e}
۰	۵۰۰	۸۳/۳۹^{b}	۸۹/۵۵^{cd}	۶۰/۷۹^{c}	۴۱/۸۴^{b}
۰	۱۰۰۰	۸۴/۷۱^{a}	۹۱/۲۴^{bc}	۶۶/۹۱^{a}	۴۸/۵۱^{a}
۳	۰	۸۳/۳۰^{b}	۹۰/۹۹^{bc}	۵۲/۳۵^{e}	۳۹/۰۵^{c}
۳	۵۰۰	۸۴/۴۴^{a}	۹۲/۵۲^{ab}	۶۰/۴۴^{c}	۴۱/۰۶^{b}
۳	۱۰۰۰	۸۴/۷۷^{a}	۹۳/۳۴^{a}	۶۷/۳۱^{a}	۴۸/۷۲^{a}
۶	۰	۷۷/۱۱^{e}	۸۷/۵۶^{e}	۵۵/۸۹^{d}	۳۳/۲۹^{f}
۶	۵۰۰	۷۷/۹۸^{d}	۸۸/۵۵^{de}	۵۹/۹۶^{c}	۳۷/۲۸^{d}
۶	۱۰۰۰	۷۸/۵۰^{d}	۸۹/۱۸^{de}	۶۳/۷۴^{b}	۴۰/۳۹^{bc}
اثرات اصلی					
اسید سیتریک (٪)					
۰		۸۳/۲^{b}	۲۷۱۷^{b}	۵۹/۹	۴۱/۸^{b}
۳		۸۴/۲^{a}	۲۷۹۶^{a}	۶۰/۰	۴۲/۹^{a}
۶		۷۷/۹^{c}	۲۶۷۹^{c}	۵۹/۹	۳۷/۰^{c}
فیتاز (FTU)					
۰		۸۰/۷^{c}	۲۶۹۴^{c}	۵۳/۴^{c}	۳۵/۸^{c}
۵۰۰		۸۱/۹^{b}	۲۷۳۳^{b}	۶۰/۴^{b}	۴۰/۱^{b}
۱۰۰۰		۸۲/۷^{a}	۲۷۶۵^{a}	۶۶/۰^{a}	۴۵/۹^{a}
SEM		۰/۰۹	۱۰/۲۲	۰/۲۵	۰/۱۹
منبع تغییرات			سطح احتمال		
اسید سیتریک		۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	NS	۰/۰۰۰۱
فیتاز		۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
اسید سیتریک × فیتاز		۰/۰۰۰۴	NS	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست (P<۰/۰۵)

عملکرد رشد

نتایج مربوط به اثرات سطوح مختلف اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی در جدول شماره ۵ خلاصه شده است. نتایج نشان داد که اسید سیتریک بر افزایش وزن و مصرف خوراک جوجه ها در همه دوره های آزمایشی اثر معنی داری (P<۰/۰۱) داشته است، بطوری که افزودن ۳ درصد اسید سیتریک موجب بهبود معنی دار (P<۰/۰۱) افزایش وزن و مصرف خوراک در دوره رشد گردید. با این حال افزایش وزن بدن و مصرف خوراک جوجه ها به

شدت تحت تأثیر جیره های حاوی ٦ درصد اسیدسیتریک قرار گرفت و در تمام دوره های آزمایشی افزایش وزن و مصرف خوراک بطور معنی داری ($P<۰/۰۱$) کاهش یافت. اسید سیتریک نیز همانند سایر اسیدهای آلی pH مناسبی برای فعالیت آنزیم های پروتئولیتیک در دستگاه گوارش ایجاد می کند و همچنین با کم کردن جمعیت میکروبی سبب افزایش هضم خوراک می شود، لذا به نظر می رسد اسید سیتریک با مکانیسم مذکور موجب جوجه های گوشتی شده است. به همین دلیل اسید سیتریک به تنهایی نیز موجب شکسته شدن کمپلکس های فیتات گردیده و از این رو سبب بالا رفتن بهره وری مواد مغذی جیره شد. بهبود افزایش وزن بدن در جوجه های تغذیه شده با سطوح مختلف آنزیم فیتاز نیز به دلیل اثر همکوشی اسیدهای آلی و آنزیم فیتاز بود. با توجه به اینکه جیره های حاوی ٦ درصد اسید سیتریک به دلیل طعم اسیدی و کاهش خوش خوراکی، سبب کاهش محسوس مصرف خوراک گردید لذا پایین تر بودن افزایش وزن و وزن پایانی جوجه های تغذیه شده با جیره های دارای ٦ درصد اسید سیتریک، در مقایسه با جیره های حاوی ۳ درصد اسید، احتمالاً به دلیل کاهش مصرف خوراک بوده است.

جدول ۵- اثر اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر عملکرد رشد جوجه های گوشتی در دوره های مختلف آزمایش

اثرات متقابل		افزایش وزن بدن (گرم)			مصرف خوراک (گرم)			ضریب تبدیل خوراک		
اسید سیتریک	فیتاز (FTU)	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره	دوره رشد	دوره پایانی	کل دوره
۰	۰	۳٦۷/۷^{ab}	۱۰۹۹/۹^{b}	۱٤٦۷/۵^{bc}	٦۷٦/۵^{abc}	۲۳۹۰/۵^{a}	۳۰٦۷/۰^{ab}	۱/۸٤^{b}	۲/۱۷^{a}	۲/۰۸
۰	۵۰۰	۳۳۲/٤^{bc}	۱۱٦۷/۵^{a}	۱٤۹۹/۹^{ab}	٦۲۱/٦^{bc}	۲۳٦۹/۵^{a}	۲۹۹۱/۰^{b}	۱/۸۷^{ab}	۲/۰۳^{ab}	۱/۹۹
۰	۱۰۰۰	۳۹۰/۵^{ab}	۱۱٦۱/۰^{a}	۱۵۵۱/۵^{a}	۷۰۱/۰^{ab}	۲٤۸۳/۱^{a}	۳۱۸٤/۲^{a}	۱/۷۹^{b}	۲/۱۳^{ab}	۲/۰۵
۳	۰	٤۲٦/٤^{a}	۱۱۲۱/۱^{ab}	۱۵٤۷/۵^{a}	۷۵٦/۰^{a}	۲٤۲۲/۲^{a}	۳۱۷۸/۲^{a}	۱/۷۷^{b}	۲/۱٦^{ab}	۲/۰۵
۳	۵۰۰	٤۳۳/۲^{a}	۱۱۳۸/۷^{ab}	۱۵۷۱/۸^{a}	۷۵۰/۹^{a}	۲٤۳۰/۵^{a}	۳۱۸۱/۳^{a}	۱/۷۳^{b}	۲/۱٤^{ab}	۲/۰۲
۳	۱۰۰۰	٤۲۲/۹^{a}	۱۱۵۵/۹^{a}	۱۵۷۸/۸^{a}	۷۵۱/۵^{a}	۲٤۲۳/۳^{a}	۳۱۷٤/۸^{a}	۱/۷۷^{b}	۲/۰۹^{ab}	۲/۰۱
٦	۰	۲۸٦/۷^{c}	۹۰۸/۲^{c}	۱۱۹٤/۸^{d}	۵۷۵/۹^{c}	۱۸۱۱/۵^{c}	۲۳۸۷/٤^{c}	۲/۰۱^{a}	۲/۰۱^{b}	۲/۰۰
٦	۵۰۰	۳٤۷/۲^{bc}	۹۲٦/٦^{c}	۱۲۷۳/۸^{d}	٦٤۱/۰^{abc}	۱۹۳۲/۰^{bc}	۲۵۷۳/۰^{d}	۱/۸۵^{b}	۲/۰۸^{ab}	۲/۰۲
٦	۱۰۰۰	۳٦۵/۷^{ab}	۹۵۸/۷^{c}	۱۳۲٤/٤^{cd}	٦۸۳/۳^{abc}	۱۹٤٦/۲^{b}	۲٦۲۹/۵^{d}	۱/۸۷^{ab}	۲/۰۳^{ab}	۱/۹۸
اثرات اصلی اسید سیتریک (٪)										
۰		۳٦۳/۵^{b}	۱۱٤٦/٦^{a}	۱۵۱۰/۸^{a}	٦٦٦/٤^{b}	۲٤۱٤/٤^{a}	۳۰۸۰/۸^{a}	۱/۸۳^{ab}	۲/۱۱	۲/۰٤
۳		٤۲۷/۵^{a}	۱۱۳۵/۲^{a}	۱۵۷۲/۷^{a}	۷۵۲/۸^{a}	۲٤۲۵/۳^{a}	۳۱۷۸/۱^{a}	۱/۷٦^{b}	۲/۱۳	۲/۰۳
٦		۳۳۳/۲^{c}	۹۳۷/٦^{b}	۱۲۸۷/۲^{b}	٦۳۳/٤^{c}	۱۸۹٦/٦^{b}	۳۰۲۹/۰^{b}	۱/۹۱^{a}	۲/۰٤	۲/۰۰
فیتاز (FTU)										
	۰	۳٦۰/۳^{b}	۱۰٤۲/۱	۱٤۰۹/۷^{b}	٦٦۹/۵^{b}	۲۲۰۸/۱	۲۸۷۷/۵^{b}	۱/۸۷	۲/۱۱	۲/۰٤
	۵۰۰	۳۷۰/۹^{b}	۱۰٦۸/۵	۱٤٤۹/۱^{ab}	٦۷۱/۱^{a}	۲۲٤٤/۰	۲۹۱۵/۱^{ab}	۱/۸۲	۲/۰۸	۲/۰۱
	۱۰۰۰	۳۹۳/۰^{a}	۱۱۰۸/۷	۱۵۱۱/۸^{a}	۷۱۱/۹^{a}	۲۲۸٤/۲	۲۹۹٦/۲^{a}	۱/۸۱	۲/۰۸	۲/۰۱
SEM		٦/٦۲	۲۱/۸۷	۲۵/۵۹	۸/۳۰	۲۷/۰۱	۳۱/۸۸	۰/۰۲۷	۰/۰۳۸	۰/۰۲۸
منبع تغییرات		سطح احتمال								
اسید سیتریک		۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۳۹	NS	NS
فیتاز		۰/۰۰۲۰	NS	۰/۰۱۷۲	NS	NS	۰/۰۵۰۰	NS	NS	NS
اسید سیتریک × فیتاز		۰/۰۰۰۱	NS	NS	۰/۰۰۲۰	NS	NS	NS	NS	NS

حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین هاست ($P<۰/۰۵$)

بولینگ فرانکنباخ و همکاران (۲۰۰۱) اثر منفی افزودن ٦ درصد اسید سیتریک به جیره های حاوی فسفر قابل دسترس کافی (٤/٥ گرم در کیلوگرم) بر عملکرد جوجه های گوشتی دانستند. بولینگ فرانکنباخ و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که اسید سیتریک (۲ تا ٦ درصد) تنها در جیره های حاوی فسفر قابل دسترس کم (۱ تا ۲/٥ گرم در کیلوگرم) و با نسبت کلسیم به فسفر قابل دسترس بزرگتر از ٤ به ۱، دارای اثر مثبت بود. چگونگی تحریک رشد توسط فیتاز می تواند تا حدودی ناشی از افزایش زیست فراهمی املاح از جمله فسفر و کلسیم به دلیل افزایش غلظت میواینوزیتول و نیز آزاد شدن مواد معدنی و عناصر کمیاب متصل به اسید فایتیک باشد (سباستین و همکاران ۱۹۹٦). افزودن ٦ درصد اسید سیتریک تنها سبب افزایش معنی دار ($P<۰/۰۱$) ضریب تبدیل خوراک در دوره رشد گردید اما در دوره های پایانی و کل دوره تنها موجب کاهش عددی ضریب تبدیل خوراک شد. همچنین آنزیم فیتاز بر ضریب تبدیل خوراک اختلاف معنی داری ایجاد نکرد. این نتایج با گزارشات ماندال و همکاران (۲۰۰۷) و نورمحمدی و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت. دلیل عدم معنی داری سطوح مختلف اسید سیتریک و فیتاز میکروبی بر ضریب تبدیل خوراک احتمالاً به این علت است که استفاده از آنزیم فیتاز و اسید، به طور همزمان وزن بدن و مصرف خوراک را افزایش داده و لذا بر روی ضریب تبدیل که متأثر از این دو متغیر است، اثری نداشت.

اسید سیتریک نیز همانند سایر اسیدهای آلی pH مناسبی برای فعالیت آنزیم های پروتئولیتیک در دستگاه گوارش ایجاد می کند و همچنین با کم کردن جمعیت میکروبی سبب افزایش هضم خوراک می شود، لذا به نظر می رسد اسید سیتریک با مکانیسم مذکور موجب افزایش رشد در جوجه های گوشتی شده است

نتیجه گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، جوجه های تغذیه شده با جیره حاوی ۳ درصد اسید سیتریک مکمل شده با ۱۰۰۰ واحد آنزیم فیتاز بهترین عملکرد را داشتند. همچنین افزودن مکمل فیتاز به جیره ها توانست موجب تعدیل فعالیت آنزیمی سرم، افزایش قابلیت هضم ایلئومی مواد مغذی و قابلیت دسترسی مواد معدنی گردد که در نتیجه سبب بهبود رشد و عملکرد جوجه ها شد. به علاوه، اسید سیتریک فعالیت ALP سرم را کاهش داد و موجب افزایش ابقای مواد معدنی در پلاسما گردید. بنابراین نیاز است در مطالعات آتی نیاز تغذیه ای جوجه های گوشتی به مواد معدنی در هنگام استفاده از اسید سیتریک و مکمل فیتاز مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مطالعه با مساعدت و همکاری شرکت دان و علوفه شرق در تهیه دان، شرکت تولیدی مرغ مادر جنوب خراسان در تامین جوجه یکروزه و حمایت مالی دانشگاه بیرجند انجام شده است که تشکر و قدردانی می گردد.

منابع مورد استفاده

Abdel-Fattah SA, EI-Sanhoury MH, EI-Mednay NM and Abdel-Azeem F, 2008. Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. Int J Poult Sci 7: 215-222.

Bogin E and Israeli B, 1976. Enzymes profile of heart and skeletal muscle, liver and lung of rooster and geese. Zbl Vet Med A 23: 152-157.

Boling-Frankenbach SD, Snow JL, Parsons CM and Baker DH, 2001. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. Poult Sci 80: 783-788.

Brenes A, Viveros A, Arija I, Centeno C, Pizarro M and Braro C, 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. Anim Feed Sci Technol 110: 201-219.

Brink EJ, Dekker PR, Beresteijn ECH and Beynen AC, 1991. Inhibitory effect of dietary soybean protein vs casein on magnesium absorption in rats. J Nutr 121: 1374-1385.

Campbell TW and Coles EH, 1986. Avian clinical pathologyin Veterinary Clinical Pathology. pp. 279-301. 4th ed. Coles EH and Saunders WB, Philadelphia.

Centeno C, Arija I, Viveros A and Brenes A, 2007. Effects of citric acid and microbial phytase on amino acid digestibility in broiler chickens. Br Poult Sci 48: 469-479.

Dilger RN, Onyango EM, Sands JS and Adeola O, 2004. Evaluation of microbial phytase in broiler diets. Poult Sci 83: 962-970.

Han YM, Roneker KR, Pond WG and Lei XG, 1998. Adding wheat middlings, microbial phytase and citric acid to corn-soybean meal diets for growing pigs may replace inorganic phosphorus supplementation. J Anim Sci 76: 2649-2656.

Hassanabadi A, Alizadeh-Ghmasari A and Leslie MA, 2007. Effects of dietary phytase, calcium and phosphorus on performance, nutrient utilization and blood parameters of male broiler chickens. J Anim Vet Adv 6: 1434-1442.

Huff WE, Moore PAJ, Waldroup PW, Waldroup AL, Balog JM, Huff GR, Rath NC, Daniel TC and Raboys V, 1998. Effect of dietary phytase and high non-phytate phosphorus corn on broiler chicken performance. Poult Sci 77: 1899-1904.

Jongbloed AW, Mroz Z and Kemme PA, 1991. Phosphorus availability and requirements in pigs. In: Recent Advances in Animal Nutrition (Haresign W and Cole DJA eds.) pp. 65-80. Butterwirths. London.

Kemme PA, Jongbloed AW, Mroz Z and Bryden AC, 1998. Diurnal variation in degeradation of phytic acid by plant phytase in the pig stomach. Livestock Prod Sci 5: 33-34.

Lei XG and Stahl CH, 2000. Nutritional benefits of phytase and dietary determinants of its efficiacy. J Appl Anim Res 17: 97-112.

Liem A, Pesti GM and Edwards HM, 2008. The Effect of Several Organic Acids on Phytate Phosphorus Hydrolysis in Broiler Chicks. Poult Sci 87: 689-693.

Meng X and Slominski BA, 2005. Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal and peas for broiler chickens as affected by a multycarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poult Sci 84: 1242-1251.

Mondal MK, Panda S and Biswas P, 2007. Effect of microbial phytase in soybean meal based broiler diets containing low phosphorus. Int J Poult Sci 6: 201-206.

Moss DW, 1982. Alkaline phosphatase isoenzymes. Clin Chem 28: 2007-2016.

Nourmohammadi R, Hosseini SM and Farhangfar H, 2011. Effect of citric acid and microbial phytase on serum enzyme activities and plasma minerals retention in broiler chicks. Afr J Biotechnol 10: 13640-13650.

Nourmohammadi R, Hosseini SM, Farhangfar H and Bashtani M, 2012. Effect of citric acid and microbial phytase enzyme on ileal digestibility of some nutrients in broiler chicks fed corn-soybean meal diets. Ital J Anim Sci 11: 36-40.

National Research Council, 1994. National Requirements of Poultry. 9th rev. ed. National Academy Press. Washington, DC.

Pallauf J, Rimbach G, Pippig S, Schindler B and Most E, 1994. Effect of phytase supplementation to a phytate-rich diet based on wheat, barley and soya on the bioavailability of dietary phosphorus, calcium,magnesium, zinc and protein in piglets. Agrobiol Res 47: 39-48.

Ravindran V, Cabahug S, Ravindran G and Bryden WL, 1999. Influence of microbial phytase on apparent ileal amino acid digestibility in feedstuffs for broilers. Poult Sci 78: 699-706.

Roberson KD and Edwards HM, 1994. Effects of ascorbic acid and 1,25-dihydroxycholecalciferol on alkaline phosphatase and tibial dyschondroplasia in broiler chickens. Br Poult Sci 35: 763-773.

SAS, 2006. User's Guide. Release 9.1. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.

Sebastian S, Touchburn SP, Chavez ER and Lague PC, 1996. The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. Poult Sci 75: 729–736.

Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA and Bryden WL, 2000. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. Nutr Res Rev 13: 255-278.

Simons PCM, Versteegh HAJ, Jongbloed AW, Kemme PA, Slump P, Bos KD, Wolters MGE, Beudeker RF and Verschoor GJ, 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. Br J Nutr 64: 525-540.

Taylor TG and Dacke CG, 1984. Calcium metabolism and its regulation. In: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl. ed. pp. 126–170. Freeman BM, Academic Press, London.

Viveros A, Brenes A, Arija I and Centeno C, 2002. Effects of microbial phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. Poult Sci 81: 1172-1183.

Zantop DW, 1997. Biochemistries. In Avian Medicine: Principles and Applications. Ritchie BW, Harrison GJ and Harrison LR. ed. pp. 115-129. Wingers Publishing Inc. Lake Worth, FL.

Zyla K, Koreleski J, Swiatkiewicz S, Wikiera A, Kujawski M, Piironen J and Ledoux DR, 2000. Effects of phosphorolytic and cell wall-degrading enzymes on the performance of growing broilers fed wheat-based diets containing different calcium levels. Poult Sci 79: 66-76.