

## اثرات افزودن اسید فولیک و روی بر محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده، کیفیت تخم مرغ و عملکرد مرغ‌های تخمگذار

ستار باقری<sup>۱\*</sup>، حسین جانمحمدی<sup>۲</sup>، رامین ملکی<sup>۳</sup>، علیرضا استاد رحیمی<sup>۴</sup> و روح الله کیانفر<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۱۲

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> به ترتیب استاد و استادیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> استادیار پژوهشی جهاد دانشگاهی استان آذربایجان غربی

<sup>۴</sup> استاد مرکز تحقیقات تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\*مسئول مکاتبه: Email:sattar\_bagheri@yahoo.com

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** ریز مغذی‌هایی مثل اسید فولیک و روی نقش مهمی در افزایش محتوای ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم مرغ دارند. **هدف:** این مطالعه برای ارزیابی اثرات اسید فولیک و روی بر محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده، کیفیت تخم مرغ و عملکرد مرغ تخمگذار سویه‌های -لاین W36 از ۵۲ تا ۵۸ هفتگی صورت گرفت. **روش کار:** جیره‌های آزمایشی با ۳ سطح روی (۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) و ۴ سطح اسید فولیک (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم جیره) تنظیم و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل ۴×۳ اجرا شد. **نتایج:** درصد تولید تخم مرغ، توده تخم مرغ و ضریب تبدیل خوراکی بطور معنی‌داری تحت تاثیر سطوح مختلف اسید فولیک (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و درصد تولید تخم مرغ، توده تخم مرغ و مصرف خوراک تحت تأثیر روی (سطح ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بهبود یافت. مقاومت پوسته تخم مرغ تحت تاثیر اسید فولیک قرار نگرفت ولی ضخامت پوسته بطور معنی‌داری با افزایش اسید فولیک کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). خصوصیات کیفی تخم مرغ تحت تاثیر سطوح مختلف روی جیره قرار نگرفت. مکمل‌سازی جیره مرغ‌های تخمگذار با اسید فولیک در سطوح ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره باعث افزایش معنی‌دار میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم مرغ به ترتیب ۲/۳، ۲۳/۷۷، ۴۸/۴۹ و ۵۴/۵۳ میکروگرم شد ( $P < 0/02$ ). همچنین سطح ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده بطور معنی‌داری تحت تاثیر سطح روی جیره قرار گرفت و بیشترین میزان فولات زرده در زرده مرغ‌های تغذیه شده با ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی در جیره مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** به طور کلی، نتایج تحقیق نشان داد که اسید فولیک و روی افزوده شده در جیره مرغ‌های تخمگذار نه تنها باعث بهبود عملکرد می‌شود بلکه افزایش محتوی فولات تخم مرغ را نیز باعث می‌گردد.

**واژگان کلیدی:** اسید فولیک، روی، ۵-متیل تتراهیدروفولات، زرده، تخم مرغ

## مقدمه

فولات‌ها اثرات مفید بسیار زیادی بر سلامتی جامعه بخصوص زنان حامله دارند و باعث کاهش تولد کودکان با نواقص لوله‌های عصبی (Neural tube defects) می‌شوند (اسمیتلز و همکاران ۱۹۷۶). اسیدفولیک یکی از مهمترین ویتامین‌های گروه ویتامین-B های B بشمار می‌رود. نقش آن در انتقال واحدهای تک کربنه بخصوص ساخت پورین‌ها و پرمیدین‌ها، تبدیل برخی از اسیدهای آمینه به همدیگر مثل سرین و گلیسین و ساخت متیونین در اثر متیلاسیون هموسیستئین از اهمیت بالایی برخوردار است (باقلی و همکاران ۲۰۰۵). روی و اسید پتروئیل گلوتامیک (اسیدفولیک) برای سلامتی و رفاه حیوانات مورد نیاز هستند در عین حال هر دوی این مواد مغذی برای ساخت اسیدهای نوکلئیک بسیار ضروری می‌باشند (میلنه و همکاران). فولات‌های موجود در مواد خوراکی بصورت پلی‌گلوتامات بوده و باید گلوتامات‌های اضافی با فرآیند مربوطه جدا شده و بشکل مونوگلوتامات جذب شوند (هاستلد ۱۹۹۰). دکونژگاز روده یک آنزیم وابسته به روی می‌باشد که بهترین فعالیت آن در pH ۶/۵ صورت می‌گیرد (هاستلد ۱۹۹۰). متیونین سنتتاز (MS) و بتائین-هموسیستئین ترانسفراز (BHMT) هر دو آنزیم متیل ترانسفراز وابسته به روی است و برای متیلاسیون هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین کاربرد دارند (جینگ و همکاران ۲۰۱۵). فولات‌ها ویتامین‌هایی هستند که در بدن حیوانات ساخته نمی‌شوند بنابراین ضروری بوده و باید بشکل مناسب از روده جذب شوند. بعد از جذب، تمام اشکال فولات به کبد تحویل داده می‌شوند (جینگ ۲۰۰۹). میلنه و همکاران (۱۹۸۴) نشان دادند که اضافه کردن اسیدفولیک به جیره هم ایستایی (Homeostasis) روی را با تشکیل کلیت غیر قابل حل تحت تاثیر قرار می‌دهد و در نتیجه در جذب روی خلل ایجاد می‌کند. اما کیتینگ و همکاران (۱۹۸۷) نشانه‌هایی از مهار جذب

روی توسط اسیدفولیک در انسان و موش مشاهده نکردند. احتمال افزایش میزان فولات تخم‌مرغ در نتیجه غنی‌سازی جیره مرغ تخمگذار با استفاده از اسیدفولیک سنتز شده وجود دارد فلذا می‌توان تخم مرغ را با این روش به یک منبع عالی از نظر فولات تبدیل کرد (شروود ۱۹۹۳، هاوس ۲۰۰۲، هبرت ۲۰۰۵، هویی ۲۰۰۹، دیکسون ۲۰۱۰، تاکتاکان ۲۰۱۰). میزان نیاز مرغ تخمگذار به فولات توسط NRC (۱۹۹۴) ۰/۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره اعلام شده است. دیکسون و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزودن اسیدفولیک به جیره باعث بهبود ضریب تبدیل خوراکی در کل دوره می‌شود. این نتایج در تحقیق دیگری که توسط اسلام و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفته بود تایید شد. آن‌ها مشاهده کردند که افزودن متیونین و اسیدفولیک در جیره باعث بهبود ضریب تبدیل خوراکی و افزایش درصد تولید تخم‌مرغ می‌شود. اما هاوس و همکاران (۲۰۰۲) و هبرت و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که اسیدفولیک اضافه شده به جیره تاثیری بر صفات اقتصادی مرغ تخمگذار نداشت. بیش از ۸۰ درصد از فولات تخم مرغ بصورت ۵-متیل تتراهیدرو فولات می‌باشد که اکثر آن در زرده قرار دارد (مک کلیپ ۲۰۰۳). تقریباً ۹۵ درصد فولات تخم مرغ در زرده آن قرار دارد (شروود ۱۹۹۳). هبرت و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که نوع غله مورد استفاده در ذخیره فولات در تخم‌مرغ تاثیر دارد. یکی از مهمترین استراتژی‌های کاربردی برای افزایش ارتقای سلامتی جامعه غنی‌سازی تخم‌مرغ با اسیدفولیک و روی است. هدف از پژوهش حاضر مطالعه تاثیر اسیدفولیک و روی افزودنی بر محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم‌مرغ، عملکرد و کیفیت تخم‌مرغ می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

۳۸۴ قطعه مرغ سفید لگهورن سویه‌های-لاین ۳۶ W از هفته ۵۲ تا ۵۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ترتیب

فولات ۰/۲۵ میلی‌گرم در هرکیلوگرم جیره (۹۰ درصد ماده خشک) اعلام شده است.

سولفات روی با فرمول شیمیایی  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  از کارخانه پارس اکسید ساخت ایران خریداری شده بود و حاوی ۲۲/۶ درصد روی بود. اسیدفولیک سنتتیک از نمایندگی شرکت لوهمن آلمان در ایران خریداری شد اسم تجاری این محصول CUXAVIT FOLIC ACID بوده که دارای حداقل ۹۵ درصد اسیدفولیک در ماده خشک می‌باشد.

#### آزمایشات شیمیایی

استاندارد ۵-متیل تتراهیدروفولات (شماره تولید: MO۱۳۲ و شماره CAS: ۶۸۷۹۲-۵۲-۹ با فرمول  $C_{10}H_{16}N_2O_6$  و با وزن مولکولی ۵۰۳/۴۲ بر مول) بصورت نمک سدیم ۵-متیل تتراهیدروفولیک اسید با بالاترین خلوص دسترسی  $\geq 88$  (UV-vis) از شرکت سیگما خریداری شد (USA) و بدون خالص سازی اضافی استفاده شد. تمام مواد شیمیایی و محلولها HPLC از مرک (آلمان) تهیه شد.

آزمایش‌های فاکتوریل  $4 \times 3$  با جیره‌هایی که شامل ۴ سطح اسیدفولیک (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵) و ۳ سطح روی (۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰) میلی‌گرم در کیلوگرم جیره بود، تغذیه شدند. هر گروه آزمایشی شامل ۴ تکرار بود. دو قفس کنار هم با ۴ قطعه مرغ به عنوان واحد آزمایشی در نظر گرفته شد (تمام قفسها در یک ردیف و طبقه قرار داشتند). مرغها با ۱۶ ساعت روشنائی مصنوعی، دمای مطلوب و تهویه مناسب پرورش یافتند. مصرف آب و خوراک بصورت کاملا اختیاری بود. آزمایش در یک مرغداری صنعتی در شهرستان مهاباد بنام زرین تخم مهاباد در ماه‌های تیر و مرداد انجام شد. مصرف خوراک بطور هفتگی اندازه‌گیری شد. ضریب تبدیل خوراکی بر اساس گرم مصرف خوراک بر گرم توده تخم‌مرغ محاسبه شد. تخم‌مرغ تولیدی بطور روزانه جمع‌آوری و بصورت درصد تولید تخم‌مرغ برای هر قطعه مرغ محاسبه شد. تخم‌مرغ‌هایی که در کل هفته تولید می‌شدند برای محاسبه میانگین هفتگی تخم‌مرغ مورد استفاده قرار می‌گرفتند. بعد از ۶ هفته ۸ تخم مرغ بطور تصادفی از هر تیمار انتخاب و برای محاسبه کیفیت داخلی و خارجی تخم‌مرغ به آزمایشگاه مربوطه ارسال شدند. از هر تیمار ۲ تخم مرغ انتخاب شد و با جدا کردن زرده آن و نگهداری در دمای ۲۰- سانتی گراد جهت ارزیابی میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات به آزمایشگاهی که مجهز به HPLC بود ارسال شد.

#### جیره آزمایشی

جیره آزمایش بر پایه ذرت و سویا و بر اساس نیازمندی‌های طیور تخمگذار NRC (۱۹۹۴) بعنوان جیره پایه انتخاب شد (جدول ۱). جیره‌های آزمایشی با افزوده سولفات روی و اسیدفولیک سنتز شده بر جیره پایه به میزان ۳ سطح روی (۱۰۰، ۱۳۰ و ۱۶۰) و ۴ سطح اسیدفولیک (۰، ۵، ۱۰ و ۱۵) میلی‌گرم در کیلوگرم جیره آماده سازی شدند (میزان فولات جیره پایه ۱/۰۶ میلی‌گرم در کیلوگرم و روی ۸۸ میلی‌گرم در کیلوگرم می‌باشد). در جداول NRC میزان نیاز طیور تخمگذار به

جدول ۱- اجزای خوراکی و ترکیبات شیمیایی جیره پایه  
Table 1. The ingredients and chemical composition of basal diet

مواد خوراکی Ingredients	%		
ذرت Yellow corn	43.03	انرژی متابولیسم ME(kcal/kg)	2700
کنجاله سویا Soybean meal	26.78	پروتئین Protein%	15.28
گندم Wheat	15	کلسیم Calcium%	4.27
صدف کوهی Loma shell	5	فسفر در دسترس Available phosphate%	0.45
صدف دریایی Oyster shell	4.74	سدیم Sodium%	0.16
روغن گیاهی Vegetable Oil	2	آرژنین Arginine %	0.95
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	1	لایزین Lysine%	0.80
پودر استخوان Bone meal	0.71	ترئونین Threonine %	0.57
سیوس Wheat bran	0.7	تریپتوفان Tryptophan %	0.22
نمک Salt	0.33	متیونین+سیستئین Met+cys%	0.66
۱ مکمل معدنی Mineral premix <sup>1</sup>	0.25	فولات Folate mg/kg	1.06
۲ مکمل ویتامینی Vitamin premix <sup>2</sup>	0.25	روی Zn mg/kg	88
متیونین DL-Methionine	0.16		
لیزین Lysine	0.05		

<sup>۱</sup> مکمل معدنی به ازای هر کیلوگرم از جیره: ۲،۴ میلی گرم مس، ۳۴ میلی گرم ید، ۳۰ میلی گرم آهن، ۲۹/۷۶ میلی گرم منگنز، ۰/۰۸ میلی گرم سلنیوم، ۲۵/۸۷ میلی گرم روی.

<sup>۲</sup> مکمل ویتامینی به ازای هر کیلوگرم از جیره: ۱۷۳۵۲۰ Iu ویتامین A، ۰/۵۹ میلی گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۱/۶ میلی گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۱۳/۸۶ میلی گرم نیاسین، ۳/۱۳ mg پانتوتنیک اسید، ۱ میلی گرم B<sub>6</sub>، ۰/۰۶ میلی گرم بیوتین، ۸۰ میلی گرم کولین، ۰/۰۰۴ میلی گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۰/۱۹ میلی گرم B<sub>9</sub>، ۱۰۰۰ Iu ویتامین D<sub>3</sub>، ۸ Iu ویتامین E، ۰/۸۸ میلی گرم k<sub>3</sub>، همه محاسبات بر اساس نیازمندیهای (NRC ۱۹۹۴) ارزیابی شده است.

<sup>1</sup>premix supplied per kg of diet: 2.4 mg Cu, 0.34 mg I, 30 mg Fe, 29.76 mg Mn, 0.08 mg Se, 25.87 mg Zn. <sup>2</sup>Premix supplied per kg of diet: 3520Iu vitamin A, 0.59 mg vitamin B<sub>1</sub>, 1.6 mg vitamin B<sub>2</sub>, 13.86 mg niacin, 3.13mg pantothonic acid, 1 mg vitamin B<sub>6</sub>, 0.06 mg biotin, 80 mg choline, 0.004 mg vitamin B<sub>12</sub>, 0.19mg vitamin B<sub>9</sub>, 1000Iu vitamin D<sub>3</sub>, 8.8 IU vitamin E, 0.88 mg vitamin k<sub>3</sub>.<sup>3</sup> All value were calculated from NRC value (1994)

#### اندازه گیری فولات زرده

مراحل استخراج و تعیین ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده توسط هاوس و همکاران (۲۰۰۲) قبلاً گزارش شده است. زرده تخم مرغها جداسازی، وزن کشی و تا مرحله آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد

#### نگهداری شدند. جداسازی و اندازه‌گیری مقدار ۵-متیل

تتراهیدروفولات در نمونه‌های زرده تخم‌مرغ بعد از جداسازی در بافر آسکوربات (pH ۷/۸) در یک اتمسفر نیتروژن وارد دستگاه HPLC (آجلیینت سری ۱۱۰۰، تکنولوژی آجلیینت، ویلمینگتون، ایالات متحده

### نتایج

اثرات اصلی و متقابل روی و اسیدفولیک بر عملکرد مرغ تخمگذار در جدول ۲ نمایش داده شده است. روی تاثیر معنی‌داری بر وزن تخم‌مرغ نداشت اما وزن تخم‌مرغ در تمام سطوح بطور معنی‌داری تحت تاثیر اسیدفولیک قرار گرفت ( $P < 0.01$ ). ولی اثرات اصلی روی و اسیدفولیک در بهبود توده تخم‌مرغ معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). بالاترین مقدار توده تخم مرغ در تیمار با سطح ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی مشاهده شد. صفت توده تخم‌مرغ تقریباً به مقدار ۷ گرم تحت تاثیر اسیدفولیک در تمام سطوح نسبت به تیمار بدون اسیدفولیک افزایش یافت. افزودن اسیدفولیک در تمام سطوح تاثیری بر مصرف خوراک نداشت، اما افزودن ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی بطور معنی‌داری میزان مصرف خوراک را به ازای مرغ در روز در مقایسه با سطوح ۱۰۰ و ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره افزایش داد. درصد تولید تخم‌مرغ تحت تاثیر اثرات اصلی روی و اسیدفولیک بطور معنی‌داری بهبود یافته بود ( $P < 0.05$ ). هیچگونه اثر متقابلی بین روی و اسیدفولیک برای تولید تخم مشاهده نشد. افزودن روی به میزان ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره باعث افزایش درصد تولید تخم‌مرغ در مقایسه با سطوح ۱۰۰ و ۱۳۰ میلی‌گرم جیره شد. اسیدفولیک افزودنی در تمام سطوح باعث افزایش درصد تولید تخم‌مرغ در مقایسه با سطح صفر شد. اما تفاوتی برای این صفت بین سطوح افزایشی اسیدفولیک مشاهده نشد.

ضریب تبدیل خوراکی در اثر سطوح افزوده شده اسیدفولیک بطور معنی‌داری نسبت به سطح صفر میلی-گرم در کیلوگرم جیره اسیدفولیک کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری در مورد ضریب تبدیل خوراکی در اثر سطوح مختلف روی مشاهده نشد، همچنین اثرات متقابل معنی‌داری بین روی و اسیدفولیک در مورد این صفت مشاهده نشد.

آمریکا) شد. و ازستون C18 (mm i.d ۴/۶ × ۲۵cm) استفاده گردید. با استفاده از نرم افزار Chemstation کنترل صورت گرفت. دستگاه HPLC به ریاب دیود اسی (DAD) و لوپ ۲۰ میکرو لیتر مجهز بود. یک منحنی استاندارد خارجی با استفاده از ۵-متیل تتراهیدروفولات خالص بدست آمد و سپس میزان فولات تخم‌مرغ مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام آزمایش‌های ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم‌مرغ در آزمایشگاه جهاددانشگاهی استان آذربایجان غربی صورت گرفت.

### اندازه گیری کیفیت تخم مرغ

ارتفاع زرده و سفیده با استفاده از دستگاه پایه‌دار (ساخت ژاپن، مدل OSK ۳۴۷۰ Alimet) با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. واحدها و با استفاده از فرمولی که قبلاً توسط هاو (۱۹۳۷) ارائه شده محاسبه شد.

$$HU = 100 \log (H + 7.6 - 1.7 W^{0.37}) = H$$

ارتفاع سفیده (mm) و  $W =$  وزن تخم مرغ (g) می باشد. مقاومت پوسته (کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری کننده مقاومت پوسته تخم‌مرغ (ساخت ژاپن مدل OSK-۱۳۴۷۳) بدست آمد. ضخامت پوسته با استفاده از میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر (مدل F.K.H ساخت ژاپن) در قسمت کمر تخم‌مرغ از سه نقطه ارزیابی شد.

### تجزیه آماری

تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۳ و رویه GLM صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش فاکتوریل ۳×۴ که با ۳ سطح روی و ۴ سطح اسیدفولیک به مرحله اجرا درآمد. نتایج مربوط به فولات زرده تخم‌مرغ در قالب طرح کامل تصادفی اجرا و مورد مقایسه قرار گرفت. قبل از تجزیه و تحلیل، داده‌ها نرمال‌سازی شدند. میانگین‌ها هم با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

### کیفیت داخلی تخم مرغ

روی و اسیدفولیک هیچ تاثیر معنی‌داری در اثرات اصلی و متقابل خود بر کیفیت داخلی تخم‌مرغ در مورد صفات: واحدها، pH سفیده، pH زرده و شاخص زرده نداشتند (جدول شماره ۳).

### کیفیت خارجی تخم مرغ

ضخامت پوسته به طور معنی‌داری در گروه با ۱۰ میلی گرم اسیدفولیک در مقایسه با دیگر گروه‌های اسیدفولیک کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). اما مقاومت پوسته و وزن پوسته تخم‌مرغ تحت تاثیر سطوح روی و اسیدفولیک قرار نگرفت. شاخص شکل تخم‌مرغ بطور معنی‌داری تحت تاثیر اسیدفولیک در سطوح ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم قرار گرفت ( $P < 0/05$ ) (جدول شماره ۳).

### محتوی ۵-متیل تترا هیدروفولات زرده

محتوی فولات تخم‌مرغ در سه صورت (۵-متیل تتراهیدروفولات در تخم‌مرغ، ۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم تخم‌مرغ و ۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم زرده) در جدول ۴ نشان داده شده است. محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده زمانی که جیره مرغ تخمگذار با اسیدفولیک مکمل‌سازی شد افزایش یافت. نتایج نشان داد که مکمل سازی جیره مرغ تخمگذار با ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی گرم اسیدفولیک در کیلوگرم جیره باعث افزایش معنی‌داری در فولات زرده تخم‌مرغ، ۲/۳، ۲۳/۷۷، ۴۸/۴۹ و ۵۴/۵۳ میکروگرم به ترتیب شد در هر تخم مرغ شد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۴).

در این آزمایش محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات در تخم‌مرغ غنی شده تقریباً ۲۴ برابر نسبت به تخم‌مرغ شاهد افزایش یافت. تیمار دارای ۱۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم روی موجب افزایش میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم تخم‌مرغ در مقایسه با سطوح دیگر شد. ولی با افزایش روی در جیره تا سطح ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات کاهش یافت (جدول ۵).

### بحث

روی و اسیدفولیک در تمام سطوح باعث بهبود صفات عملکردی (توده تخم‌مرغ و درصد روزانه تخم‌مرغ) مرغان تخمگذار شدند. صفاتی که فقط اسیدفولیک بیشترین تاثیر بر آنها داشت وزن تخم مرغ و ضریب تبدیل خوراکی بود و صفتی که فقط روی تاثیر معنی‌داری بر آن داشت مصرف خوراک بود (جدول ۲). این نتایج نشان داد که افزودن اسیدفولیک و روی بیش از میزان توصیه شده NRC (۱۹۹۴) می‌تواند بهره‌وری مرغ تخمگذار را افزایش دهد.

اسلام (۲۰۰۹) مشاهده کرد که افزایش متیونین و اسیدفولیک در جیره باعث بهبود ضریب تبدیل و تولید روزانه تخم‌مرغ شد. دیکسون و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که مکمل سازی جیره با ۴ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدفولیک در جیره باعث بهبود ضریب تبدیل خوراکی در کل دوره تولید مرغ تخمگذارهای- لاین ۳۶ W و های-لاین W۹۸ و CV ۲۰ شد. اما هاوس و همکاران (۲۰۱۰) و هبرت و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که اسیدفولیک تاثیر معنی‌داری بر عملکرد مرغ تخمگذار نداشت.

فولاتها با ارائه واحدهای تک کربنه و تبدیل هموسیستئین به متیونین تاثیر زیادی بر پایداری نگهداشتن بدن در شرایط نرمال و متیلاسیون هموسیستئین دارند (پیلایی و همکاران ۲۰۰۶). در یک مطالعه متفاوت تاکتاکان و همکاران (۲۰۱۰) زمانی که جیره مرغ تخمگذار را با اسیدفولیک (۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و ۵-متیل تتراهیدروفولات (۱۱/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) برای سه هفته مکمل سازی کردند، میزان هموسیستئین پلاسما بطور معنی‌داری کاهش یافت و همچنین همزمان میزان فولات پلاسما نیز افزایش یافت. این محققین همچنین مشاهده کردند، تخم مرغهای بزرگ زمانی تولید می‌شوند که به جیره پایه بجای اسیدفولیک ۵-متیل تتراهیدروفولات افزوده شود.

(پارک و همکاران ۲۰۰۴). بنابراین وقتی سطح روی بالاتر از نیازمندی‌های توصیه شده NRC افزایش می‌یابد، نیاز سویه‌های جدید (باتوجه به خصوصیات تولیدی بهبود یافته) بهتر تامین می‌شود.

واحدها و بعنوان یکی از شاخص‌های کیفیت سفیده بیان می‌شود (سیلورسایدز و ویلنیو ۱۶۶۴). این شاخص عمدتاً تحت تاثیر نوع تغذیه قرار نمی‌گیرد. عامل اصلی که ارتفاع سفیده را تعیین می‌کند مدت زمان نگهداری تخم‌مرغ می‌باشد. همچنین برای تعیین شرایطی که تخم‌مرغ نگهداری شده است می‌توان pH را اندازه‌گیری کرد چرا که با افزایش زمان نگهداری pH تخم‌مرغ افزایش می‌یابد (مانسی و همکاران ۱۹۹۷). زانگ و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که سطوح مختلف ویتامین (ویتامین A، ویتامین D، ویتامین E، ویتامین K، تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، کوبالامین، اسیدفولیک، اسید پانتوتونیک، بیوتین، ویتامین C) بر خصوصیات کیفی تخم‌مرغ مثل: شاخص شکل، وزن پوسته تخم‌مرغ، واحدها و ضخامت پوسته تاثیری نداشت، ولی میزان تخم‌مرغ ترک خورده و کثیف کاهش یافت. در یک سری از آزمایش‌ها، مکمل‌سازی جیره با اسیدفولیک، ویتامین B<sub>۱۲</sub> و کولین باعث کاهش اندازه تخم‌مرغ و بهبود خصوصیات کیفی تخم‌مرغ شده (کشاورز و همکاران ۲۰۰۳). در تحقیق حاضر مشاهده شد که روی نمی‌تواند تاثیری بر کیفیت تخم‌مرغ داشته باشد (جدول ۳). با افزایش اسیدفولیک ضخامت پوسته کاهش یافته ولی مقاومت پوسته کاهش معنی‌داری پیدا نکرد. مکانیسم مربوط به این پدیده مشخص نیست. شاخص شکل بطور معنی‌داری تحت تاثیر قرار گرفت و در گروه‌های دریافت کننده ۵ و ۱۵ میلی‌گرم در کیلوگرم اسیدفولیک در جیره افزایش یافت ( $P < 0.01$ ). همچنین چگونگی تاثیر اسیدفولیک بر شاخص شکل نیز مشخص نیست.

محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات زرده بنحو چشمگیر و معنی‌داری (زمانی که با جیره‌هایی که با اسیدفولیک

در یک تحقیق دیگر نیز میزان هموسیستئین در اثر غنی‌سازی جیره با اسیدفولیک در مرغ تخمگذار خوراکی کاهش یافت (هبرت و همکاران ۲۰۰۵).

نیازمندی‌های طیور به فولات که از طرف NRC توصیه شده است به چند دهه پیش برمی‌گردد. سویه‌های جدید صنعتی به دلیل کاهش ضریب تبدیل خوراکی و بهبود صفات تولید مثلی و رسیدن به اهداف تولیدی در زمان کوتاه نیاز بیشتری به فولات دارند. بنظر می‌رسد که نتایج به دست آمده در این تحقیق در واقع نشان می‌دهد که نیاز این پرندگان به فولات افزایش یافته است. بنابراین فولات با کاستن از هموسیستئین و افزایش متیونین که اولین اسید آمینه محدود کننده در جیره‌های بر اساس ذرت و سویا است باعث بهبود عملکرد این طیور می‌شود.

حیوانات قادر به سنتز فولات در بدن خود نیستند، بنابراین جذب این ویتامین با کارایی بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پلی‌گلوتامات‌های فولات ابتدا در روده باید تحت تاثیر آنزیم دکونژوگاز به صورت مونوگلوتامات در آمده و سپس جذب شوند. این آنزیم یک آنزیم وابسته به روی بوده و موثرترین فعالیت خود را در pH ۶/۵ داراست (هاستلد و همکاران ۱۶۶۰ و گوری و همکاران ۱۹۹۵).

کمبود روی تولید و ساخت DNA و رشد سلول‌های و بافت‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد. روی ممکن است سیستم ایمنی را غیرمستقیم با اثراتی که بر رشد عوامل بیماری‌زا دارد تحت تاثیر قرار دهد (پارک ۲۰۰۴). بنابراین روی می‌تواند باعث بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی و مرغ تخمگذار شود. روی همچنین می‌تواند باعث افزایش جذب فولات شده و دستگاه تولید مثلی پرندگان را بهبود دهد. احتمالاً همان چیزی که در مورد نیازمندی‌های فولات گفته شد در مورد روی نیز صدق کند. روی نقش مهمی در ۶ نوع آنزیم که شامل: اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولازها، لیاها، ایزومرازها و لیگازها می‌باشند در بدن بازی می‌کند

تخمگذار را شناسایی کردند. بالاترین جذب اسیدفولیک زمانی مشاهده شد که روده اسیدی بوده و pH تقریباً برابر با ۶ بود. بیشترین مقدار جذب اسیدفولیک در دوازدهه و ژنوم و کمترین جذب آن در ایلئوم و سکوم مشاهده شد.

در تحقیق حاضر میزان فولات تخم مرغ‌های مکمل سازی نشده در مقایسه با گزارش‌های قبلی از هاوس و همکاران (۲۰۰۲)، هبرت و همکاران (۲۰۰۵)، تاکتاکان و همکاران (۲۰۱۰) و دیکسون و همکاران (۲۰۱۰) بسیار پایین بود (۲/۳ میکروگرم در هر تخم مرغ)، آنها میزان فولات تخم مرغ معمولی را بترتیب ۱۷/۵، ۱۶/۷، ۲۸/۲ و ۱۵/۳ میکروگرم در هر تخم مرغ گزارش کرده بودند. آنها ادعا داشتند که میزان فولات تخم مرغ را ۲ تا ۳ برابر در مقایسه با تخم مرغ معمولی افزایش داده‌اند در حالیکه در این مطالعه تخم مرغ غنی شده تقریباً ۲۴ برابر نسبت به تخم مرغ‌های معمولی در ایران دارای ویتامین بودند.

یک تخم مرغ غنی شده با فولات با وزن تقریبی ۶۰ گرم دارای ۵۴ میکروگرم فولات طبیعی می‌باشد. این مقدار می‌تواند ۱۳/۵، ۳۶ و ۹ درصد فولات مجاز روزانه برای بزرگسالان (۴۰۰ میکروگرم در روز) و کودکان (۱۵۰ میکروگرم در روز) و زنان حامله (۶۰۰ میکروگرم در روز) را تامین نماید.

اخیراً مزایای ۵-متیل تتراهیدروفولات در مقایسه با فولات سنتز شده به اثبات رسیده است که شامل: جذب بسیار مناسب حتی در تغییر pH روده، زیست فراهمی آن تحت تاثیر عوامل مخرب قرار نمی‌گیرد و عدم پوشش نشانه‌های کمبود ویتامین B12 از آن جمله می‌باشد. همچنین این نوع از فولات کمترین اثرات متقابل را با داروهایی دارد که دی هیدروفولات ردوکتاز را مهار می‌کنند و اثرات ناشی از پلی‌مورفیسم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز را کاهش می‌دهد. ۵-متیل تتراهیدروفولات همچنین می‌تواند اثرات منفی

مکمل نشده بود مقایسه شد) افزایش یافت. این نتایج یافته‌های محققان دیگر را در مورد غنی‌سازی تخم مرغ تایید می‌کند (شروود ۱۹۹۳، هاوس ۲۰۰۲، هبرت ۲۰۰۵، هویی ۲۰۰۹، دیکسون ۲۰۱۰ و تاکتاکان ۲۰۱۰). نتایج این مطالعه نشان داد که مکمل‌سازی جیره با اسیدفولیک بطور معنی‌داری باعث افزایش فولات زرده تخم مرغ شد ( $P < 0.05$ ) (جدول ۴).

تیمار ۱۳۰ میلی‌گرم روی در کیلوگرم جیره بالاترین میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات در تخم مرغ در مقایسه با سطوح دیگر روی از خود نشان داد. با افزایش سطح روی به ۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مقدار فولات تخم مرغ کاهش یافت. ممکن است این پدیده به دلیل افزایش تشکیل کلیت غیر قابل جذب و کاهش جذب فولات زرده باشد (میلنه و همکاران ۱۹۸۴). این امر نشان می‌دهد که برای غنی‌سازی تخم مرغ با اسیدفولیک تعیین سطح مناسب روی از اهمیت بسزایی برخوردار است. جیره صفر میلی‌گرم در کیلوگرم از اسیدفولیک افزودنی دارای کمترین میزان ۵-متیل تتراهیدروفولات بود.

تخم مرغ دارای ویژگی اشباع پذیر به میزان فولات در زرده می‌باشد، بنابراین بالا بردن سطح اسیدفولیک جیره باعث افزایش بیشتر فولات تخم مرغ نمی‌شود (شروود ۱۹۹۳، هاوس ۲۰۰۲، هبرت ۲۰۰۵، هویی ۲۰۰۹، دیکسون ۲۰۱۰ و تاکتاکان ۲۰۱۰). الگوی مشابهی در غلظت فولات خون نیز در زمان مکمل‌سازی جیره با اسیدفولیک مشاهده شده است (هبرت و همکاران ۲۰۰۵).

بنابراین به دلیل خاصیت اشباع‌پذیری خون به فولات که به عنوان مخزنی برای زرده بشمار می‌آید، شناسایی عواملی که جذب اسیدفولیک از دستگاه گوارش و میزان فولات خون را تعیین می‌کند در غنی‌سازی تخم مرغ بسیار مهم می‌باشد. از آن جمله آنزیم‌هایی مثل فولات پلی‌گلوتامات دکونژوگاز و pH روده از اهمیت زیادی برخوردار است. تاکتاکان و همکاران (۲۰۱۱) یک سیستم حمل‌کننده اسیدفولیک در کل روده مرغ



اسیدفولیک متابولیزه نشده در جریان خون را کاهش دهد (اسکاگیون و همکاران ۲۰۱۴).

جدول ۲- اثر جیره‌های آزمایشی بر روی ضریب تبدیل خوراکی، درصد تولید تخم مرغ، مصرف خوراک، توده تخم مرغ و وزن نهایی بدن

Table 2 -Effect of experimental treatments on feed conversion ratio, egg production percent, feed intake, egg mass and final body weight

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	ضریب تبدیل خوراکی Feed conversion ratio(g feed/g egg)	درصد تولید تخم مرغ Egg production percent (%)	مصرف خوراک(مرغ/گرم/روز) Feed intake(g/hen/d)	توده تخم مرغ(گرم/روز) egg mass	وزن تخم مرغ Egg weight(gr)
روی					
Zinc effect					
۱۰۰ میلی گرم mg 100	1.83	82.4 <sup>a</sup>	87.44 <sup>a</sup>	39.54 <sup>a</sup>	47.97
۱۳۰ میلی گرم mg 130	1.82	83.4 <sup>b</sup>	87.19 <sup>a</sup>	40.12 <sup>ab</sup>	48.04
۱۶۰ میلی گرم mg 160	1.85	84.42 <sup>c</sup>	92.81 <sup>b</sup>	42.65 <sup>b</sup>	50.47
SEM	0.037	0.24	1.59	0.89	1.08
اسیدفولیک					
Folic Acid effect					
۰ میلی گرم mg 0	2.02 <sup>a</sup>	80.47 <sup>a</sup>	89	35.46 <sup>a</sup>	44.08 <sup>a</sup>
۵ میلی گرم mg 5	1.78 <sup>b</sup>	84.23 <sup>b</sup>	88	42.1 <sup>b</sup>	49.98 <sup>b</sup>
۱۰ میلی گرم mg 10	1.77 <sup>b</sup>	84.29 <sup>b</sup>	89.91	42.84 <sup>b</sup>	50.43 <sup>b</sup>
۱۵ میلی گرم mg 15	1.76 <sup>b</sup>	84.64 <sup>b</sup>	88.75	42.68 <sup>b</sup>	50.81 <sup>b</sup>
SEM	0.043	0.27	1.83	1.03	1.25
اثر اسیدفولیک × روی					
Zinc×Folic Acid effect					
T1(۰ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	2.025	79.77	92	36.45	45.67
T1(100Zinc×0Folic Acid)					
T2(۵ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	1.95	80.15	83	34.15	42.62
T2(100 Zinc ×5 Folic Acid)					
T3(۱۰ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	2.09	81.5	92	35.8	43.95
T3(100 Zinc ×10 Folic Acid)					
T4(۱۵ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	1.77	83.15	83.75	39.42	47.42
T4(100 Zinc ×15 Folic Acid)					
T5(۱۰ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	1.78	84.15	88	41.77	49.65
T5(130 Zinc ×0 Folic Acid)					
T6(۵ فولیک اسید × ۱۳۰ روی)	1.81	85.4	95	45.1	52.87
T6(130 Zinc ×5 Folic Acid)					

Acid)						
T7(۱۰ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	1.76	83.35	87	41.15	49.4	
T7(130 Zinc × 10 Folic Acid)						
T8(۱۵ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	1.79	83.92	88.25	41.6	49.57	
T8(130 Zinc × 15 Folic Acid)						
T9(۰ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	1.77	85.6	94.5	45.77	53.45	
T9(160 Zinc × 0 Folic Acid)						
T10(۵ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	1.76	83.35	87	41.15	49.4	
T10(160 Zinc × 5 Folic Acid)						
T11(۱۰ × ۱۶۰ روی) (اسیدفولیک)	1.78	85.4	89.5	42.95	50.3	
T11(160 Zinc × 10 Folic Acid)						
T12(۱۵ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	1.74	85.17	89.75	43.95	51.6	
T12(160 Zinc × 15 Folic Acid)						
SEM	0.075	0.48	3.18	1.8	2.16	

SEM: خطای استاندارد میانگینها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند ( $P < 0.05$ )  
<sup>a-b</sup> Means within each parameter with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

جدول ۳- اثر جیره های آزمایشی بر روی صفات کیفی داخلی و خارجی تخم مرغ

Table 3. Effect of experimental treatments on internal and external egg quality

تیمارهای آزمایشی Experimental treatments	مقاومت پوسته egg shell strength(gr/cm <sup>2</sup> )	واحد هاو Haugh unit	شاخص زرده yolk index	شاخص شکل shape index	pH زرده yolk pH	pH سفیده albumen pH	ضخامت پوسته egg shell thickness(m)	وزن پوسته egg shell weight(g)
روی								
Zinc effect								
۱۰۰ میلی گرم mg 100	0.98	74.51	48.15	74.12	5.93	9.14	0.299	5.82
۱۳۰ میلی گرم mg 130	0.68	75.2	49.06	74.52	5.93	9.14	0.293	5.85
۱۶۰ میلی گرم mg 160	0.89	74.53	48.98	74.49	5.92	9.08	0.290	5.68
SEM	0.088	1.52	0.71	0.137	0.004	0.02	0.006	0.07
اسیدفولیک								
Folic Acid effect								
۰ میلی گرم mg 0	0.78	74.02	43.57	74.09 <sup>a</sup>	5.94	9.10	0.303 <sup>a</sup>	5.93
۵ میلی گرم mg 5	0.94	75.23	50.27	74.66 <sup>b</sup>	5.92	9.09	0.304 <sup>a</sup>	5.85
۱۰ میلی گرم mg 10	0.72	76.55	50.29	74.09 <sup>a</sup>	5.92	9.14	0.27 <sup>b</sup>	5.61

۱۵ میلی گرم	0.95	74.51	50.78	74.66 <sup>b</sup>	5.93	9.14	0.29 <sup>ab</sup>	5.74
mg 15								
SEM	0.1	1.76	0.82	0.159	0.005	0.03	0.007	0.09
اثر اسیدفولیک × روی								
Zinc×Folic Acid effect								
T1(۰ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	1.1	72.78	43.27	73.65	5.94	9.12	0.317	5.99
T1(100Zinc×0Folic Acid)								
T2(۵ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	0.825	74.55	49.85	74.4	5.94	9.12	0.283	5.99
T2(100 Zinc ×5 Folic Acid)								
T3(۱۰ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	1.062	74.62	49.02	74.23	5.92	9.15	0.308	5.81
T3(100 Zinc ×10 Folic Acid)								
T4(۱۵ اسیدفولیک × ۱۰۰ روی)	0.937	79.65	50.45	74.59	5.92	9.15	0.297	5.83
T4(100 Zinc ×15 Folic Acid)								
T5(۰ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	0.429	73.4	45.00	74.64	5.92	9.09	0.302	5.74
T5(130 Zinc ×0 Folic Acid)								
T6(۵ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	0.762	72.65	50.17	74.76	5.92	9.13	0.313	5.98
T6(130 Zinc ×5 Folic Acid)								
T7(۱۰ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	0.737	74.3	50.75	73.65	5.91	9.13	0.297	5.71
T7(130 Zinc ×10 Folic Acid)								
T8(۱۵ اسیدفولیک × ۱۳۰ روی)	0.788	76.15	50.32	74.4	5.92	9.17	0.28	5.8
T8(130 Zinc ×15 Folic Acid)								
T9(۰ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	0.825	79.22	42.46	74.23	5.93	9.09	0.246	5.26
T9(160 Zinc ×0 Folic Acid)								
T10(۵ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	1.237	75.2	50.8	74.59	5.93	9.03	0.285	5.76
T10(160 Zinc ×5 Folic Acid)								
T11(۱۰ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	0.363	76.7	51.1	74.64	5.92	9.11	0.305	5.81
T11(160 Zinc ×10 Folic Acid)								
T12(۱۵ اسیدفولیک × ۱۶۰ روی)	1.138	71.62	51.57	74.76	5.93	9.09	0.292	5.65
T12(160 Zinc ×15 Folic Acid)								
SEM	0.176	3.05	1.42	0.27	0.008	0.45	0.013	0.152

SEM: خطای استاندارد میانگینها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند ( $P < .05$ )

<sup>a-b</sup> Means within each parameter with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

تخم مرغ را از یک منبع فقیر از نظر ویتامین ب ۹ به منبع عالی از این ویتامین تبدیل می‌کند.

بطور کلی افزایش اسید فولیک و روی در جیره طیور تخمگذار نه تنها باعث ارتقای عملکرد آنها شده و صفات اقتصادی را بهبود می‌بخشد، بلکه میزان فولات تخم مرغ را که از نوع ۵-متیل تتراهیدرو فولات بوده و شکل فعال این ویتامین از نظر بیولوژیکی است و فاقد خطرات ناشی از اسیدفولیک سنتتیک می‌باشد افزایش داده و

جدول ۴- تاثیر اسید فولیک بر محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم مرغ، ۱۰۰ گرم تخم مرغ و ۱۰۰ گرم زرده  
Table 4. Effect of different levels of dietary folic acid on 5-MTHF content in egg, 100 gr egg and 100 gr yolk

تیمار Treatment	۵-متیل تتراهیدروفولات در هر تخم مرغ 5-MTHF $\mu$ g /egg	۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم تخم مرغ 5-MTHF $\mu$ g/100gr egg	۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم زرده 5-MTHF $\mu$ g/100gr yolk
۰ میلی گرم mg 0	2.3 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	11.94 <sup>a</sup>
۵ میلی گرم mg 5	23.77 <sup>ab</sup>	37.86 <sup>ab</sup>	127.93 <sup>ab</sup>
۱۰ میلی گرم mg 10	48.49 <sup>b</sup>	79.6 <sup>bc</sup>	252.4 <sup>b</sup>
۱۵ میلی گرم mg 15	54.53 <sup>b</sup>	88.79 <sup>c</sup>	286.6 <sup>b</sup>
SEM	8.65	13.63	44.27

SEM: خطای استاندارد میانگینها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند ( $P < 0.05$ )

<sup>a-b</sup> Means within each parameter with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ )

جدول ۵- تاثیر روی بر محتوی ۵-متیل تتراهیدروفولات تخم مرغ، ۱۰۰ گرم تخم مرغ و ۱۰۰ گرم زرده  
Table 5. Effect of different levels of dietary Zinc on 5-MTHF content in egg, 100gr egg and 100gr yolk

تیمار Treatment	۵-متیل تتراهیدروفولات در هر تخم مرغ 5-MTHF $\mu$ g /egg	۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم تخم مرغ 5-MTHF $\mu$ g/100gr egg	۵-متیل تتراهیدروفولات در ۱۰۰ گرم زرده 5-MTHF $\mu$ g/100gr yolk
۱۰۰ میلی گرم mg 100	11.397 <sup>a</sup>	19.068 <sup>a</sup>	61.7325 <sup>a</sup>
۱۳۰ میلی گرم mg 130	48.800 <sup>b</sup>	78.666 <sup>b</sup>	257.9 <sup>b</sup>
۱۶۰ میلی گرم mg 160	36.615 <sup>ab</sup>	59.722 <sup>ab</sup>	189.525 <sup>ab</sup>
SEM	7.48	11.795	38.34

SEM: خطای استاندارد میانگینها، در هر ستون اعداد دارای حروف غیر مشابه از نظر آماری اختلاف معنی داری دارند ( $P < 0.05$ )

<sup>a-b</sup> Means within each parameter with different superscript letters are significantly different ( $P < 0.05$ ).

#### منابع مورد استفاده

- Bagley P and Shane B, 2005. Folate. In: Coates P, Blackman MR, Cragg G, Levine M, Moss J and White J. Encyclopedia of Dietary Supplements. New York, NY: Marcel Dekker, 219-228.
- Dickson TM, Tactacan GB, Hebert K, Guenter W and House JD, 2010. Optimization of folate deposition in eggs through dietary supplementation of folic acid over the entire production cycle of Hy-Line W36, Hy-Line W98, and CV20 laying hens. Journal of Applied Poultry Research 19: 80-91.
- Gregory JF, 1995. The Bioavailability of Folate. In: Bailey LB, ed. Folate in Health and Disease. New York: Marcel Dekker, 195-235.
- Halsted CH, 1990. Intestinal absorption of dietary folates. In: Picciano MF, Stokstad ELR and Gregory JF, eds. Folic Acid Metabolism in Health and Disease. Eds. New York, NY: Wiley-Liss Inc, 23-45.
- Halsted CH, 1991. Jejunal brush-border folate hydrolase, a novel enzyme. Western Journal of Medicine 155: 605-609.
- Haugh RR, 1937. The Haugh unit for measuring egg quality. US Egg Poultry Magazine 43: 552-555.

- Hebert K, House JD and Guenter W, 2005. Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and the performance and folate status of two strains of laying hens. *Poultry Science* 84: 1533-1538.
- Hebert K, Tactacan GB, Dickson TM, Guenter W and House JD, 2011. The effect of cereal type and exogenous enzyme use on total folate content of eggs from laying hens consuming diets supplemented with folic acid. *Journal of Applied Poultry Research* 20: 303-312.
- Hoey L, McNulty H, McCann EM, McCracken KJ, Scott JM, Marc BB, Molloy AM, Graham C and Pentieva K, 2009. Laying hens can convert high doses of folic acid added to the feed into natural folates in eggs providing a novel source of food folate. *British Journal of Nutrition* 101: 206-212.
- House JD, Braun K, Balance DM, Connor CPO and Guenter W, 2002. The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of laying hen diet. *Poultry Science* 81: 1332-1337.
- Islam I, Omara M, Ramy M and Romeilah M, 2009. Energy and methionine utilization in laying hen diets supplementation with folic acid. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 5(4): 428-444.
- Jing M, Tactacan GB, Rodriguez-Lecompte JC, Kroeker A and House JD, 2009. Molecular cloning and tissue distribution of reduced folate carrier and effect of dietary folate supplementation on the expression of reduced folate carrier in laying hens. *Poultry Science* 88: 1939-1947.
- Jing M, Rech L, Wu Y, Goltz D, Taylor GG and House JD, 2015. Effect of zinc deficiency and zinc supplementation on homocysteine levels and related expression in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 30: 77-82.
- Keating JN, Wada L, Stokstad ELR and King JC, 1987. Folic acid: effect on zinc absorption in human and rat. *American Journal of Clinical Nutrition* 46: 835-839.
- Keshavarz K, 2003. Effects of reducing dietary protein, methionine, choline, folic acid, and vitamin B<sub>12</sub> during the late stages of the egg production cycle on performance and eggshell quality. *Poultry Science* 82: 1407-1414.
- McKillop DJ, McNulty H and Scott JM, 2006. The rate of intestinal absorption of natural food folates is not related to the extent of folate conjugation. *American Journal of Clinical Nutrition* 84: 167-173.
- McKillop DJ, Pentieva KD, Scott JM, Strain JJ, McCreedy R, Alexander J, Patterson K, Hughes J and McNulty H, 2003. Protocol for the production of concentrated extracts of food folate for use in human bioavailability studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 4382-4388.
- Milne DB, Canfield WK, Mahalko JR and Sanstead HH, 1984. Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *American Journal of Clinical Nutrition* 39: 535-539.
- Monsey JB, Robinson DS, Miller WS and Ellis M, 1997. The effect of feeding magnesium-enriched diet on the quality of albumen of stored eggs. *British Journal of Nutrition* 37: 35-44.
- National Research Council, 1994. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirements of Poultry*. 9th rev. ed. Natl. Acad. Sci, Washington, DC.
- Park SY, Birkhold SG, Kubena LF, Nisbet DJ and Ricke SC, 2004. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity and reproduction. *Biological Trace Element Research* 101(2): 147-160.
- Pillai PB, Fanatico AC, Beers KW, Blair ME and Emmer JL, 2006. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline and betaine. *Poultry Science* 85: 90-95.
- SAS Institute Inc, 2002. *Qualification Tools. User guide of statistical analysis system procedure, Version 9.3*. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Scaglione F and Giscardo P, 2014. Folate, folic acid and 5-methyltetrahydrofolate are not the same thing. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 44(5): 480-488.
- Sherwood TA, Alphin RL, Saylor WW and White HB, 1993. Folate metabolism and deposition in eggs by laying hens. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 307: 66-72.
- Silversides FG and Villeneuve P, 1994. Is the Haugh unit correction for egg weight valid for egg stored at room temperature? *Poultry Science* 73: 50-55.
- Smithells RW, Sheppard S and Schorah CJ, 1976. Vitamin deficiencies and neural tube defects. *Archives of Disease in Childhood* 51: 944-950.

- Tactacan GB, Jing M, Rodriguez-Lecompte JC, Oconner DL, Guenter W and House JD, 2010. Characterization of folate-dependent enzymes and indices of folate status in laying hens supplemented with folic acid or 5-methyltetrahydrofolate. *Poultry Science* 89: 688-696.
- Tactacan GB, Rodriguez-Lecompte JC, Karmin O and House JD, 2011. Functional characterization of folic acid transport in the intestine of the laying hen using the everted intestinal sac model. *Poultry Science* 90: 83-90.
- Vahteristo LT, Ollilainen V and Vajo PJ, 1997. Liquid chromatographic determination of folatemonoglutamates in fish meat, egg and dairy products consumed in Finland. *Journal of AOAC International* 80: 373-378.

## The effects of dietary folic acid and zinc on yolk 5-methyltetrahydrofolate content, laying hens performance and egg quality

S Bagheri<sup>1</sup>, H Janmohmmadi<sup>2</sup>, R Maleki<sup>3</sup>, A Ostadrahimi<sup>4</sup> and R Kianfar<sup>5</sup>

Received: November 17, 2015 Accepted: October 03, 2016

<sup>1</sup>PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor Department of Chromatography, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Urmia, Iran

<sup>4</sup> Professor, Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\*Corresponding author, Email: sattar\_bagheri@yahoo.com

### Abstract

**BACKGROUND:** Micronutrients such as Folic acid (FA) and Zinc (Zn) have important role in enrichment of egg with 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF). **OBJECTIVES:** This study was performed to evaluate the effect of FA and Zn on performance, egg quality and egg 5-MTHF content of Hy-line W36 hens from 52 to 58 weeks of ages. **METHODS:** Experimental diets were formulated using three levels of Zn (100, 130 and 160 mg/kg of diet) and four levels of FA (0, 5, 10 and 15 mg/kg of diet). Study was conducted by employing a completely randomized design with 3×4 factorial arrangement. **RESULTS:** Egg production percent, egg mass and feed conversion ratio was significantly improved by supplementation of FA and Zn ( $P<0.05$ ). Egg quality traits were not affected by dietary Zn levels. Supplementation of diets with 0, 5, 10 and 15 mg FA /kg increased yolk 5-MTHF content 2.3, 23.77, 48.49, 54.53  $\mu\text{g}/\text{egg}$ , respectively ( $P=0.02$ ). The values of 5-MTHF in eggs was significantly affected by Zn levels and the highest value was determined in diet with 130 mg/Kg ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS:** In conclusion supplementation of laying hens diets with FA and Zn not only improves performance of laying poultry, but also increases the 5- MTHF content of egg.

**Key words:** Folic Acid, Zinc, 5-methyltetrahydrofolate, Yolk, Egg