

## تأثیر استفاده از منابع مختلف نانو منگنز در جیره بر عملکرد و زیست‌فراهمی منگنز در جوجه‌های گوشتی

لیلا لطفی<sup>۱</sup>، مجتبی زاغری<sup>۲\*</sup>، سعید زین‌الدینی<sup>۳</sup>، داریوش داوودی<sup>۴</sup> و محمود شیوازاد<sup>۵</sup>  
 ۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی دکترای تغذیه طیور، دانشیاران و استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج  
 ۵. استادیار، بخش نانوتکنولوژی پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران  
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۲/۵)

### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی زیست‌فراهمی منابع مختلف نانو منگنز در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، به عنوان منبع استاندارد این ماده، در خوراک طیور و بررسی اثر این مواد بر فراسنجه‌های استخوانی اجرا شد. ۲۰۸ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس ۳۰۸ در ۱۰ روزگی در طرحی کاملاً تصادفی با ۱۳ گروه آزمایشی، چهار تکرار و چهار پرنده در هر تکرار به مدت ۳۵ روز مطالعه شدند. ترکیبات منگنز از چهار منبع مختلف (نانو اکسید، نانو کربنات، نانو سولفات و میکرو سولفات منگنز)، در سه سطح (۷۰، ۱۲۰ و ۱۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) به عنوان سطوح درجه‌بندی شده به جیره‌هایی حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز (تیمار شاهد)، اضافه شدند و آزادانه در اختیار پرندگان قرار گرفتند. نتایج نشان داد که نانو منگنز در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، سبب افزایش معنادار مقاومت استخوان در برابر نیروی فشاری شکننده شد ( $P < 0/01$ ). زیست‌فراهمی ترکیبات مختلف نانو منگنز، در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، به طور معناداری بیشتر بود ( $P < 0/01$ ). برای محتوای منگنز استخوان، زیست‌فراهمی نانو سولفات، نانو کربنات و نانو اکسید منگنز در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، به ترتیب برابر با ۳۲۴، ۱۵۸ و ۱۲۵ درصد بود. به طور کلی نتایج این بررسی بیانگر قابلیت جایگزینی میکرو سولفات منگنز به وسیله ترکیبات نانو منگنز در جیره، به منظور کاهش مشکلات پا در جوجه‌های گوشتی، بدون مشاهده اثر منفی در عملکرد بود.

**واژه‌های کلیدی:** استحکام درشت‌نی، جوجه گوشتی، زیست‌فراهمی، فراسنجه‌های عملکردی، نانو منگنز.

### مقدمه

بخش کشاورزی از جمله مهم‌ترین عرصه‌هایی است که استفاده از دستاوردهای فناوری نانو منافع زیادی را متوجه آن خواهد کرد؛ به گونه‌ای که بی‌شک استفاده از فرآورده‌هایی در ابعاد نانو، باعث تعدیل در هزینه‌های تمام‌شده محصولات کشاورزی خواهد شد (Khayyam et al., 2010).

منگنز یک ماده معدنی کم‌نیاز است که در بسیاری از

سیستم‌های بدن نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند (Conly et al., 2012). این ماده برای شکل‌گیری مناسب استخوان و غضروف، پیشگیری از استرس اکسیداتیو، فعالیت‌های آنزیمی و سوخت‌وساز آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها و کلسترول ضروری است (Ji et al., 2006; Luo et al., 2007). NRC (1994)، سطح مناسب استفاده از منگنز را برای دستیابی به بهترین عملکرد، در جیره جوجه‌های گوشتی ۶۰ میلی‌گرم در

## مواد و روش‌ها

برای تهیه نانو منگنز، ترکیبات مختلف این ماده (اکسید، کربنات و سولفات منگنز)، به صورت میکرو خریداری شدند و طی یک روش تلفیقی به ابعاد نانو درآمدند. به طور خلاصه این ترکیبات ابتدا در آسیاب ماهواره‌ای به ذرات ریزتر خرد شدند. پس از چند مرحله فرارگرفتن در معرض امواج فراصوت<sup>۱</sup>، ۵ دقیقه با دامنه ۲۴۰ میکرومتر و با توان ۲۳ وات، در دستگاه خشک‌کن به روش انجماد<sup>۲</sup> خشک شدند. پس از این مرحله برای ادامه روند تهیه نانو منگنز، از ذرات کیتوزان استفاده شد.

کیتوزان (Chitosan) یک بیوپلیمر کاتیونیک است که از N-داستیلاسیون (N-De acetylation) کیتین به عنوان دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت (پس از سلولز)، به دست می‌آید (Jolles & Muzzarelli, 1999). کیتین مورد نیاز برای این پژوهش از شرکت آبی فرایند بوشهر تهیه شد. کیتوزان با درجه داستیلاسیون ۹۰ درصد و وزن مولکولی ۱۰ کیلو دالتون، از کیتین استخراج شد (Abdou, et al., 2008).

به منظور تهیه نانو منگنز از ترکیبات مختلف منگنز که پیش از این فراوری شده بودند، محلول‌هایی با غلظت‌های متفاوت از اسید استیک ۱ درصد و کیتوزان و همچنین محلول (درصد سدیم تری پلی فسفات (TPP) در آب دیونیزه (deionized water)، با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای اتاق تهیه شدند. هم‌زدن هر دو محلول تا جایی ادامه یافت که محلول کاملاً شفاف و همگن حاصل آمد. در این مرحله محلول TPP به نسبت ۱ به ۲۵ به محلول کیتوزان اضافه شد. ترکیبات مختلف منگنز حاصل از خشک‌شدن به روش انجماد با نسبت‌های مختلف به محلول به‌دست‌آمده افزوده شدند. پس از چند مرحله سانتریفیوژ و خشک‌کردن به روش انجماد، اندازه ذرات در دستگاه DLS<sup>۳</sup>، مدل Stabisizer ساخت شرکت Particle Matrix آلمان، اندازه‌گیری شد. ذراتی که ابعاد آن‌ها در حد مقیاس نانو (کمتر از ۱۰۰ نانومتر) بود، برای تهیه جیره‌های حاوی نانومنگنز استفاده شدند. به منظور

کیلوگرم بیان کرد و راهنمای پرورش جوجه گاوشتی راس ۳۰۸، مقدار ۱۲۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم از جیره را برای این عنصر پیشنهاد کرده‌است. به همین دلیل در این پژوهش سعی شده تا سطوح اضافه‌شونده منگنز در جیره‌های آزمایشی، تا حد ممکن، مقادیر فوق را به همراه سطوح پایین‌تر و بالاتر، تحت پوشش قرار دهند.

مطالعه در زمینه مواد معدنی همواره با مشکلاتی همچون امکان ایجاد تغییرات نامناسب در ساختار این مواد در طی مسیر حرکت در دستگاه گوارش و تغییر در خواص ماده مورد نظر، تا رسیدن به بافت هدف همراه بوده است. به این منظور ترکیبات مناسب و مختلفی برای پوشش‌دار کردن این مواد، استفاده می‌شوند. کیتوزان ماده‌ای است که به دلیل ویژگی‌های زیست‌شناختی منحصر به فرد از قبیل نداشتن هرگونه خاصیت سمی، داشتن قابلیت بالای تجزیه‌پذیری زیستی و داشتن خاصیت چسبندگی زیستی، به عنوان ماده‌ای بسیار مناسب برای بررسی‌های زیست‌شناسی و نانو فناوری از جمله پوشش‌دار کردن مواد، استفاده می‌شود (Dorkoosh et al., 2003; Muzzarelli, 2010).

این پژوهش به منظور تعیین زیست‌فراهمی نانو منگنز در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی و بررسی ترکیبات مختلف این ماده مغذی در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، به مرحله اجرا درآمد. این نکته درخور توجه است که منگنز عنصری است که جذب آن از دستگاه گوارش پرندگان بسیار ضعیف است (Collins & Moran, 1999) و از سوی دیگر این عنصر کم‌نیاز نقش بسیار مهمی در بسیاری از واکنش‌های مهم بدن به‌ویژه واکنش‌های مربوط به تشکیل استخوان و غضروف دارد که امروزه با توجه به رشد بالای جوجه‌های گوشتی و افزایش فشار بر ساختار استخوان‌ها، به یکی از مشکلات اساسی در صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی تبدیل شده است (Ji et al., 2006)؛ در نتیجه به نظر می‌رسد که استفاده از مقیاس نانو این ترکیبات، به دلیل تغییر در اندازه ذرات، بتواند امکان جذب این عنصر را افزایش دهد. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی کارایی زیستی ترکیبات مختلف نانو منگنز به عنوان یکی از اجزای مکمل‌های معدنی با در نظر گرفتن تغییرات فراسنجه‌های استخوانی در جوجه‌های گوشتی است.

1. Ultra sonication
2. Freeze drier
3. Dynamic Light Scattering

برای تهیه مکمل معدنی مورد نیاز، فرمول مربوط به این مکمل، بدون ترکیبات منگنز نوشته شد و با جیره تهیه شده به صورت جیره پایه، مخلوط گردید. نانو و میکرو منگنز به صورت سطوح درجه بندی شده، در سه سطح ۰،۷۰، ۱۲۰ و ۱۷۰ میلی گرم در کیلوگرم، با محاسبه خلوص منگنز در این ترکیبات به جیره پایه اضافه شدند.

تهیه جیره‌هایی با مقادیر اضافه‌شونده منگنز به صورت سطوح درجه بندی شده، جیره پایه که خود حاوی ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم منگنز بود (منشأ گرفته از منگنز موجود در مواد خوراکی جیره پایه)، بدون اضافه کردن مکمل معدنی برای سه مقطع آغازین، رشد و پایانی، بر اساس پیشنهادهای راهنمای پرورش جوجه گاوشتی راس ۳۰۸ ساخته شد (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی موجود در جیره پایه

مواد خوراکی	آغازین ۰ - ۱۰ روزگی	رشد ۱۱ - ۲۳ روزگی	پایانی ۲۴ - ۳۵ روزگی
ذرت	۵۹/۱۷	۶۶/۴۳	۷۰/۷۹
کنجاله سویا (۴۸ درصد)	۳۶/۹	۲۹/۱۷	۲۴/۲۲
سبوس گندم	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۴۷
دی کلسیم فسفات	۱/۵۷	۱/۶۵	۱/۷۱
کربنات کلسیم	۱/۱۷	۱/۱۵	۱/۱۵
نمک	۰/۴۳	۰/۴۱	۰/۴۱
پیش مخلوط معدنی*	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
پیش مخلوط ویتامینی**	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی آل - متیونین	۰/۱۸	۰/۲۰	۰/۲۴
آل - لایزین هایدروکلراید	۰/۰۹	۰/۳۱	۰/۵۱
ترکیب شیمیایی جیره			
انرژی قابل سوخت و ساز*** (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۸۰۰	۲۹۰۰	۲۹۵۰
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۹۲	۱۹/۰۸	۱۷/۶۹
کلسیم (درصد)	۰/۹۲	۰/۹۲	۰/۹۲
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۴۱	۰/۴۱	۰/۴۱
سدیم (درصد)	۰/۱۸	۰/۱۸	۰/۱۸
منگنز (میلی گرم در کیلوگرم)****	۲۰ (۱۷/۵)	۲۰ (۱۷)	۲۰ (۱۷/۵)
متیونین + سیستین (درصد)	۰/۱۸۶	۰/۱۸۱	۰/۱۷۹
لایزین (درصد)	۱/۲	۱/۱۹	۲/۱
ترئونین (درصد)	۰/۸۰	۰/۷۴	۰/۷۳
تریپتوفان (درصد)	۰/۱۷	۰/۱۷	۰/۱۶

\* مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک مقادیر زیر را تأمین می‌کند: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی (استات)؛ ویتامین D<sub>3</sub> (کوله کلسیفرول)، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E (استاتتوکوفریل)، ۷۵ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K<sub>3</sub>، ۳ میلی‌گرم؛ ویتامین B<sub>12</sub>، ۰/۰۱۶ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ ریبوفلاوین، ۸ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۲ میلی‌گرم؛ پانتوتنیک اسید، ۱۵ میلی‌گرم؛ کولین، ۴۶۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳ میلی‌گرم و پیریدوکسین، ۴ میلی‌گرم.  
 \*\* مکمل معدنی در هر کیلوگرم خوراک مقادیر زیر را تأمین می‌کند: ۱۰۰ میلی‌گرم مس، ۱۲۰ میلی‌گرم روی، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۱/۲ میلی‌گرم ید، ۰/۳ میلی‌گرم سلنیوم و بدون منگنز.  
 \*\*\* AMEn انرژی قابل سوخت‌وساز تصحیح شده برای ابقای صفر ازت.  
 \*\*\*\* شماره‌های بیرون پرانتز، مقادیر محاسبه شده و شماره‌های درون پرانتز مقادیر به دست آمده از تجزیه هستند.

یافتند. به منظور خالی شدن ذخایر منگنز موجود در بدن جوجه‌ها، به مدت ۱۰ روز (طول دوره آغازین)، برای همه گروه‌های آزمایشی از جیره پایه فاقد منگنز

۲۰۸ قطعه جوجه گاوشتی در یک‌روزه سوپه راس ۳۰۸، با میانگین وزن ۴۴ گرم از گله مرغ مادر در ۴۲ هفته‌گی خریداری شدند و از جوجه‌کشی به سالن انتقال

خاکستر برای بررسی از نظر محتوای منگنز، پس از چربی‌زدایی، ۲۴ ساعت در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مقدار منگنز موجود در خاکستر با استفاده از روش توصیه‌شده در AOAC و دستگاه جذب اتمی تعیین شد (Hall et al., 2003). روش تعیین زیست‌فراهمی نیز بر اساس منابع موجود، مبتنی بر مقایسه شیب خط پاسخ پرنده با مصرف ماده استاندارد و ماده مورد پرسش بود ( $b_2/b_1$ ). به این روش که در آن زیست‌فراهمی، از تقسیم شیب خط پاسخ پرنده به شیب خط استاندارد تعیین می‌شود، روش نسبت شیب نیز می‌گویند (Little et al., 1997). در این زمینه و در بین ترکیبات مختلف استفاده‌شده در این مطالعه، بر پایه منابع مورد بررسی، میکرو سولفات منگنز به عنوان ماده استاندارد در نظر گرفته شد.

داده‌ها با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS/STAT بررسی شدند و مدل مورد بررسی برای تعیین زیست‌فراهمی در این پژوهش به صورت زیر بود:

$$y = a + b_1x_1 + e$$

$$y = a + b_2x_2 + e$$

به گونه‌ای که  $Y$ ، پاسخ پرنده (محتوای منگنز و استحکام درشت‌نی)؛  $a$ ، عرض از مبدا (عملکرد پرنده با جیره پایه)؛  $b_1$ ، شیب خط میکرو سولفات منگنز؛  $b_2$ ، شیب خط نانو اکسید، کربنات و سولفات منگنز؛  $x_1$ ، سطح میکرو سولفات منگنز؛  $x_2$ ، سطح نانو اکسید، کربنات و سولفات منگنز و  $e$ ، خطای آزمایشی بود.

برای مقایسه میانگین‌ها، آزمون چنددامنه‌ای دانکن (به دلیل امکان انجام مقایسه‌های مختلف مستقل و غیرمستقل میانگین‌ها در زیر یک چتر حمایتی یکسان، بدون افزایش مقدار حداقل تفاوت معنادار) استفاده و معناداری آماری در ( $P < 0.01$ )، بررسی شد.

### نتایج و بحث

نتایج این بررسی نشان داد که ترکیبات مختلف نانو منگنز (اکسید، کربنات و سولفات منگنز) در مقایسه با گروه آزمایشی شاهد و گروه آزمایشی میکرو سولفات منگنز، بر وزن بدن، مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی تأثیر معناداری نداشتند (جدول ۲).

استفاده شد (Sunder et al., 2012). در ۱۱ روزگی پس از توزین، جوجه‌ها بر اساس میانگین وزن به گروه‌های آزمایشی دارای نانو منگنز (اکسید منگنز، کربنات منگنز، سولفات منگنز) و میکرو سولفات منگنز با سه سطح (۱۷۰، ۱۲۰، ۷۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، و یک گروه آزمایشی شاهد، تقسیم شدند. هر گروه آزمایشی دارای چهار تکرار و چهار مشاهده برای هر تکرار در واحدهای آزمایشی (قفس) بود. در طول دوره پرورش آب مورد نیاز جوجه‌ها، به صورت آب مقطر تأمین شد تا از دریافت‌نشدن منگنز از طریق آب آشامیدنی، اطمینان حاصل شود. جوجه‌ها به صورت هفتگی توزین شدند و وزن و مقدار خوراک مصرفی ثبت گردید.

در پایان ۳۵ روزگی، پس از وزن‌کشی نهایی و ثبت خوراک مصرفی جوجه‌ها، یک جوجه از هر تکرار به روش ذبح اسلامی کشتار شد و نمونه‌های مربوط به ساق پای راست به منظور تفکیک استخوان درشت‌نی<sup>۱</sup> جدا شدند. نمونه‌های ساق پا درون کیف پلاستیکی برچسب‌دار قرار گرفتند. کیف‌های پلاستیکی حاوی ساق پا، پس از بسته‌بندی در یک کیسه پلاستیکی مقاوم به نفوذ آب، به مدت ۲۰ دقیقه به روش بن‌ماری پخته شدند. پس از سرد شدن، جداسازی کامل بافت‌های متصل به استخوان درشت‌نی به انجام رسید و استخوان‌ها برای آزمون‌های پسین، استفاده شدند.

استحکام استخوان با استفاده از دستگاه SANTAM STM-5، مدل DBBP-20، ساخت کشور کره جنوبی اندازه‌گیری شد. برای این منظور استخوان روی دو پایه نگهدارنده دستگاه با فاصله ۶ سانتی‌متر قرار گرفت. ظرفیت دستگاه ۵۰ کیلوگرم و فاصله تکیه‌گاه ۴ سانتی‌متر بود. با حرکت زبانه دستگاه با سرعت ۵ میلی‌متر در دقیقه نیرویی فزاینده بر نقطه میانی استخوان اعمال شد، نیروی لازم برای شکست هر استخوان در لحظه شکست توسط دستگاه ثبت شد و به عنوان معیار استحکام استخوان ارزیابی شد.

به منظور تعیین مقدار محتوای منگنز، ابتدا استخوان‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با حرارت ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس به منظور استحصال

ترکیبات میکروی این عناصر هستند، مطابقت دارد (Gonzales *et al.*, 2009; Rohner *et al.*, 2007).

زیست‌فراهمی ترکیبات متفاوت نانو منگنز شامل اکسید، کربنات و سولفات منگنز برای مقدار منگنز ذخیره‌شده در استخوان، با در نظر گرفتن میکرو سولفات منگنز به عنوان ماده استاندارد، ارزیابی و سنجیده شد. نتایج نشان داد که زیست‌فراهمی نانو سولفات منگنز برای منگنز موجود در استخوان از دو ترکیب دیگر، بیشتر بود (شکل ۱- الف، ب، ج). در آزمایش‌های دیگر نیز زیست‌فراهمی بیشتر سولفات منگنز در مقایسه با کربنات و اکسید این ماده به ویژه در استخوان تأیید شده است (Southern & Baker, 1983).

زیست‌فراهمی منابع مختلف منگنز برای محتوای منگنز استخوان در سطح ۱۷۰ میلی‌گرم بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. سطح ۱۲۰ میلی‌گرم از این نظر در رتبه بعد قرار داشت. پژوهش‌های دیگر در این زمینه نتیجه به دست آمده را تأیید می‌کنند. یعنی با افزایش سطح ترکیبات حاوی منگنز در جیره، تا حدی کمتر از سطح سمیت این ماده، زیست‌فراهمی این عنصر برای ذخیره‌سازی در استخوان افزایش می‌یابد (Wong *et al.*, 1989; Smith *et al.*, 1995).

این یافته با یافته‌های مطالعه پژوهشگران دیگر که زیست‌فراهمی سطوح مختلف ترکیبات منگنز جیره را بررسی کرده بودند، مطابقت دارد (Smith *et al.*, 1995). گروهی از پژوهشگران نشان داده‌اند که تفاوت در زیست‌فراهمی منگنز، در صورت استفاده از سطوح بالاتر منگنز به طور واضح‌تری قابل تشخیص است. این پژوهشگران علت این پدیده را به بیشتر بودن ضریب همبستگی به دست آمده برای میزان منگنز استخوان، در سطوح بالاتر منگنز جیره مربوط دانسته‌اند (Black *et al.*, 1984).

شایان ذکر است که این نتیجه در مورد مقادیر به کار رفته از مکمل‌های متفاوت منگنز در این مطالعه بوده است. این امکان وجود دارد که با افزایش بیشتر سطح مکمل‌های نانو منگنز در جیره، میزان زیست‌فراهمی این عنصر دست‌خوش تغییرات معکوس شود. به‌ویژه توجه به این نکته ضروری است که بر اساس مطالعات صورت‌گرفته، زیست‌فراهمی در مورد ترکیبات نانوی عناصر، نسبت به

این نتیجه با نتایج آزمایش‌های دیگر با استفاده از ترکیبات مختلف منگنز، تطابق دارد و همه بیانگر این نکته هستند که منگنز افزوده‌شده به جیره بر پایه ذرت- سویا، به دلیل تأمین منگنز مورد نیاز برای رشد، توسط ترکیبات جیره (در حد ۲۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم جیره)، بر وزن و صفات وابسته به این فراسنجه تأثیری ندارد و بنابراین استفاده از مقادیر بیشتر منگنز در جیره جوجه‌های گوشتی، بر اساس توصیه راهنمای پرورش جوجه گوشتی راس ۳۰۸ و NRC، به منظور تأمین منگنز مورد نیاز برای سوخت‌وساز بدن و شکل‌گیری استخوان است (Watson *et al.*, 1971; Henry & Ammerman, 1986; Sunder *et al.*, 2012).

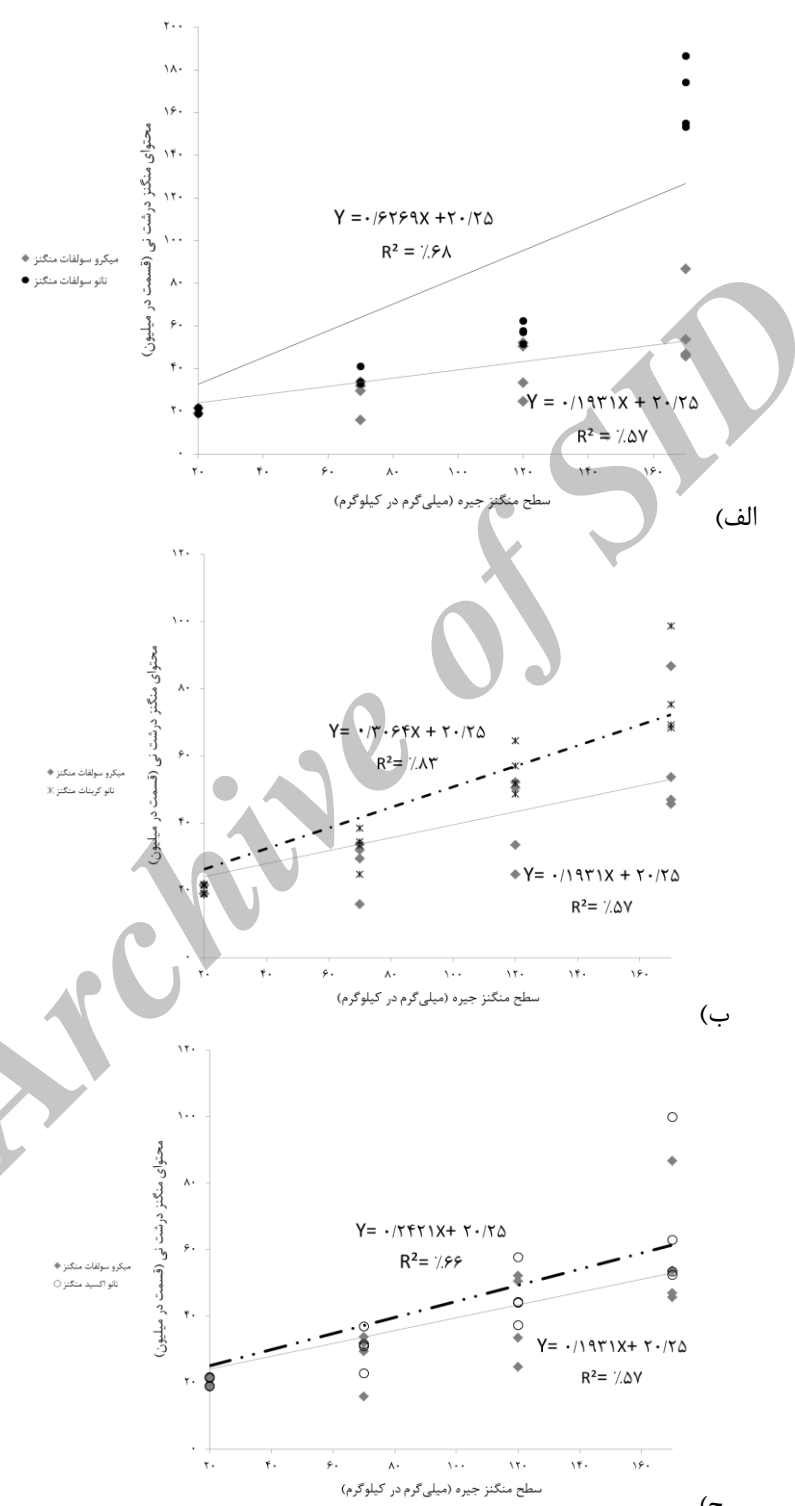
نتیجه این پژوهش با نتایج استفاده از نانو ذرات سلنیوم (Zhou & Wang, 2011) و نانو ذرات مس (Wang *et al.*, 2011) در جیره جوجه‌های گوشتی که هر دو ماده سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل غذایی شدند، تفاوت دارد. نتایج پژوهش حاضر، همچنین با نتایج استفاده از نانو ذرات مس در خوراک خوک که سبب بهبود فراسنجه‌های عملکردی شده است (Gonzales *et al.*, 2009) و نیز نتایج مطالعات پژوهشگران دیگر، مبنی بر کاهش وزن بدن با مصرف کیتوزان حمل‌کننده نانو ذرات در جیره، به دلیل امکان تداخل کیتوزان در هضم و جذب چربی، مغایرت دارد (Deuchi *et al.*, 1994; Shiao & Yu, 1998, 1999).

بخشی از این تفاوت می‌تواند به تفاوت عناصر معدنی استفاده‌شده در این پژوهش‌ها، تفاوت اثرات و فعالیت‌های سلنیوم و مس با منگنز، تفاوت سطوح مواد معدنی استفاده‌شده در جیره با مطالعه حاضر و همچنین تفاوت بین حیوانات استفاده‌شده در مطالعات گوناگون مربوط باشد (Sunder *et al.*, 2012).

نتایج بررسی زیست‌فراهمی برای مقدار منگنز و استحکام استخوان برای ترکیبات مختلف نانو منگنز نشان داد که زیست‌فراهمی منگنز در تیمارهای حاوی نانو منگنز در مقایسه با تیمار شاهد و گروه آزمایشی دریافت‌کننده میکروسولفات منگنز، بیشتر بود. این نتایج توسط نتایج بررسی زیست‌فراهمی پژوهش‌های دیگر که بیانگر افزایش زیست‌فراهمی ترکیبات نانوی عناصر معدنی از جمله آهن و مس در مقایسه با

افزایش یافته و نیاز به بررسی و مطالعه بیشتر در مورد سطوح، ترکیبات و زیست‌فراهمی این عناصر آشکارتر به نظر می‌رسد.

ترکیبات میکروی همان عناصر افزایش می‌یابد (Wang *et al.*, 2011; Zhou & Wang, 2011). بنابراین امکان رسیدن به سطوح سمی عناصر در مورد این ترکیبات



شکل ۱. مقایسه زیست‌فراهمی منگنز بر اساس محتوای منگنز استخوان: الف) میکرو و نانو سولفات منگنز، ب) میکروسولفات منگنز و نانو کرنات منگنز، ج) میکرو سولفات منگنز و نانو اکسید منگنز.

جدول ۲. اثر منابع مختلف نانو منگنز جیره در مقایسه با میکرو سولفات منگنز بر عملکرد جوجه‌های گوشتی\*

۳۵ روزگی			۲۱ روزگی			تیمار
ضریب تبدیل غذایی	ADFI (گرم در روز)	وزن بدن (گرم)	ضریب تبدیل غذایی	ADFI*** (گرم در روز)	وزن بدن (گرم)	جیره پایه**
۱/۴۴	۸۷/۳۹	۱۴۴۸/۸	۱/۲۷	۵۶/۷۷	۸۹۳/۵	میکرو منگنز (میلی گرم در کیلوگرم)
						MnSO <sub>4</sub>
۱/۴۲	۸۸/۸۱	۱۴۵۱/۲	۱/۲۹	۵۶/۲۰	۸۷۹/۷	۷۰
۱/۴۲	۸۲/۶۴	۱۴۱۹/۹	۱/۲۶	۵۴/۸۸	۸۶۶/۸	۱۲۰
۱/۴۲	۹۱/۱۴	۱۴۷۲/۸	۱/۲۸	۵۵/۱۸	۸۵۸/۰	۱۷۰
						نانو منگنز (میلی گرم در کیلوگرم)
						MnO
۱/۴۱	۸۳/۳۱	۱۴۴۷/۲	۱/۲۷	۵۴/۹۸	۸۶۵/۵	۷۰
۱/۴۱	۸۵/۵	۱۳۰۱/۸	۱/۲۸	۴۵/۲	۷۲۰/۸	۱۲۰
۱/۴۲	۸۴/۴۲	۱۳۷۵/۰	۱/۲۷	۵۱/۳۴	۸۱۰/۳	۱۷۰
						MnCO <sub>3</sub>
۱/۴۱	۸۶/۶۳	۱۴۵۰/۶	۱/۲۹	۵۴/۷۳	۸۵۴/۰	۷۰
۱/۴۲	۹۰/۴۷	۱۳۹۰/۶	۱/۲۷	۵۵/۲۷	۸۷۰/۵	۱۲۰
۱/۴۱	۸۲/۵۸	۱۴۲۷/۱	۱/۲۷	۵۳/۶۵	۸۴۹/۶	۱۷۰
						MnSO <sub>4</sub>
۱/۴۲	۸۶/۶۱	۱۴۶۷/۵	۱/۲۶	۵۵/۵۷	۸۷۸/۹	۷۰
۱/۴۰	۷۸/۸۹	۱۳۹۱/۳	۱/۲۹	۵۷/۴۲	۸۸۵/۰	۱۲۰
۱/۴۲	۸۸/۲۶	۱۳۳۷/۴	۱/۲۸	۵۸/۰۷	۹۰۳/۸	۱۷۰
۰/۰۲	۳/۳۴	۵/۴۷	۰/۰۱	۳/۱۱	۴/۲۶	SEM
						P value
۰/۷۳۳	۰/۶۰۰	۰/۶۷۰	۰/۶۷۳	۰/۸۵۰	۰/۷۵۰	میکرو منگنز
۰/۳۵۲	۰/۴۲۱	۰/۵۵۴	۰/۴۵۱	۰/۳۳۴	۰/۴۴۲	نانو منگنز

\* داده‌ها میانگین چهار تکرار هستند.

\*\* حاوی ۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم منگنز و بدون منگنز اضافه شونده.

\*\*\* میانگین مصرف خوراک روزانه (گرم/پرنده/روز)

بیماری‌های استخوانی و مقاوم‌سازی استخوان در انسان نیز بهره گرفت. استفاده از سطوح مناسب منگنز در جیره غذایی انسان به‌ویژه افرادی که گیاه‌خواری را در برنامه خوراکی خود بسیار محدود کرده‌اند، سبب کاهش بیماری‌های استخوانی مانند بزرگ و ضعیف‌شدن استخوان در مفاصل و شکستگی‌های استخوان خواهد شد. این موضوع به‌ویژه برای بیماران دارای مشکلات ارتوپدیک (Orthopedic) مانند پوکی استخوان، نرمی استخوان و سایر ناهنجاری‌های استخوان دارای اهمیت است (Watts, 1990).

نتایج جدول ۳ نشان می‌دهد که استحکام استخوان نیز تحت تأثیر منبع نانو منگنز استفاده‌شده در جیره قرار گرفت. مقدار زیست‌فراهمی نانو سولفات، نانو کربنات و نانو اکسید منگنز در مقایسه با میکرو سولفات منگنز، بر اساس استحکام استخوان به ترتیب برابر با ۲۳۸، ۳۷۵ و ۱۴۵ درصد بود.

این نتایج مؤید این مطلب است که افزایش نانو منگنز به جیره، در مقایسه با میکرو منگنز، سبب افزایش مقاومت استخوان در برابر نیروهای شکننده خواهد شد. از این مورد می‌توان جهت اصلاح

جدول ۳. زیست‌فراهمی ترکیبات مختلف نانو منگنز در مقایسه با میکرو سولفات منگنز بر اساس نسبت شیب تابعیت خطی استحکام استخوان

Pvalue عرض از مبدا	Pvalue شیب	Pvalue غیر خطی	***R <sup>2</sup> /RBV	SE	شیب	متغیر وابسته
۰/۷۶۵۰	۰/۰۰۰۱	۰/۱۸۳۵	۲/۳۸	۰/۰۹	۰/۹۶۴۴ <sup>a</sup>	* Nano MnSO <sub>4</sub>
			۰/۴۲	۰/۰۹	۰/۴۰۴۶ <sup>b</sup>	Micro MnSO <sub>4</sub>
۰/۰۲۸۲	۰/۰۰۰۱	۰/۶۶۵۲	۳/۷۵	۰/۱۳	۰/۵۷۸۸ <sup>a</sup>	** Nano MnCO <sub>3</sub>
			۰/۲۶	۰/۱۳	۰/۱۵۴۳ <sup>b</sup>	Micro MnSO <sub>4</sub>
۰/۱۶۰۶	۰/۰۰۰۱	۰/۷۴۷۹	۱/۴۵	۰/۰۷	۰/۷۵۴۲ <sup>a</sup>	*** Nano MnO
			۰/۶۸	۰/۰۷	۰/۵۱۷۳ <sup>b</sup>	Micro MnSO <sub>4</sub>

a,b. اعداد با حروف متفاوت در یک ستون، از نظر آماری دارای اختلاف معنادار هستند.

\* عرض از مبدا = ۷۲/۶۶ و R<sup>2</sup> = ۰/۹۰

\*\* عرض از مبدا = ۷۲/۶۶ و R<sup>2</sup> = ۰/۷۸

\*\*\* عرض از مبدا = ۷۲/۶۶ و R<sup>2</sup> = ۰/۸۸

\*\*\*\* RBV: Relative Bioavailability Value : زیست‌فراهمی نسبی.

### نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از ترکیبات مختلف نانو منگنز در جیره، سبب بیشتر شدن قابلیت دسترسی به منگنز و کاهش مشکلات پا در جوجه‌های گوشتی خواهد شد. نانو سولفات منگنز با

داشتن بیشترین زیست‌فراهمی در بین ترکیبات مختلف این عنصر، مناسب‌ترین ترکیب از این نظر بود. نتایج بیانگر آن است که با بررسی بیشتر نانو منگنز از نظر سمیت احتمالی، امکان جایگزین کردن آن به جای ترکیبات میکرو منگنز، در خوراک طیور وجود دارد.

### REFERENCES

1. Abdou, S. E., Nagy, K. & Elsabee, M. Z. (2008). Extraction of chitosan from local sources. *Bioresources Technology*, 99, 1359367.
2. AOAC. (1995). Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA.
3. Aviagen. (2007). *Nutrition Specification for Ross 308*. Aviagen Limited, Newbridge, Scotland.
4. Black, J. R., Ammerman, C. B., Henry, P. R. & Miles, R. D. (1984). Tissue manganese uptake as a measure of manganese bioavailability. *Nutrition reports International*, 29, 807-814.
5. Collins, N. E. & Moran, E. T. (1999). Influence of supplemental Manganese and Zink on Live performance and carcass quality of diverse Broiler Strains. *Journal of Appl. Poultry Research*, 8, 228-235.
6. Conly, A. K., Poureslami, R., Koutsos, E. A., Batal, A. B., Jung, B., Beckstead, R. & Peterson, D. G. (2012). Tolerance and efficacy of tribasic manganese chloride in growing broiler chickens. *Poultry Science*, 91, 1633-1640.
7. Deuchi, K., Kanauchi, O., Imasato, Y. & Kobayashi, E. (1994). Decreasing effect of chitosan on the apparent fat digestibility by rats fed on a high-fat diet. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 58, 1613-1616.
8. Dorkoosh, F. A., Verhoef, J. C., Tehrani, M. R., Borchard, G. & Junginger, H. E. (2003). Peroral drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 12, 213-220.
9. Gonzales-Eguia, A., Chao-Ming, F., Fu-Yin, L. & Tu-Fa, L. (2009). Effects of nano copper on copper availability and nutrients digestibility, growth performance and serum traits of piglets. *Livestock Science*, 126, 122-129.
10. Hall, L. E., Shirley, R. B., Bakalli, R. I., Aggrey, S. E., Pesti, G. M. & Edwards, H. J. (2003). Power of Two Methods for the Estimation of Bone Ash of Broilers. *Poultry Science*, 82, 414-418.
11. Henry, P.R., Ammerman, C. B. & Miles, R. D. (1986). Influence of virginiamycin and dietary manganese on performance, manganese utilization, and intestinal tract weight of broilers. *Poultry Science*, 65, 321-324.
12. Ji, F., Luo, X.G., Lu, L., Liu, B. & Yu, S. X. (2006). Effect of Manganese Source on Manganese Absorption by the Intestine of Broilers. *Poultry Science*, 85, 1947-1952.



13. Jolles, P. & Muzzarelli, R.A.A. (1999). *Chitin and chitinases*, Basel: Birkhauser Verlg. ISBN 3764358157.
14. Khayyam Nekooee, M., Biazar, A. & Salehi, G. (2010). *Nanotechnology in Agricultural Sciences* (1st ed.). Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran publication. (in Farsi)
15. Little, R. C., Henry, P. R., Lewis, A. J. & Ammerman, C. B. (1997). Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. *Animal Science*, 75, 2672-2683.
16. Luo, X. Y., Liu, S. B., Lu, L., Li, S. F., Xie, J. J., Zhang, L. Y., Zhang, J. H. & Luo, X. G. (2007). Relative bioavailability of iron proteinate for broilers fed a casein-dextrose diet. *Poultry Science*, 86, 888-894.
17. Muzzarelli, R. A. (2010). Chitins and chitosans as immune adjuvants and non-allergic drug carriers. *Marine Drugs (Basel)*, from
18. www.mdpi.com/journal/marinedrugs.
19. NRC. (1994). Nutrient Requirements of Poultry, 9<sup>th</sup> edn. *National Academy of Sciences*, Washington, DC.
20. Rohner, F., Ernst, F. O., Arnold, M., Hilbe, M., Biebinger, R., Ehrensperger, F., Pratsinis, S. E., Langhans, W., Hurrell, R. & Zimmermann, M. (2007). Synthesis, Characterization, and Bioavailability in Rats of Ferric Phosphate Nanoparticles. *Journal of Nutrition*, 137, 614-619.
21. SAS Institute. (2002). SAS/STAT User's Guide: Statistics. *SAS Institute Inc.* Cary, NC, USA.
22. Shiau, S.-Y. & Yu, Y. P. (1998). Chitin but not chitosan supplementation enhances growth of grass shrimp, *Penaeus monodon*. *Journal of Nutrition*, 128, 908-912.
23. Shiau, S. Y. & Yu, Y. P. (1999). Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 179, 439-446.
24. Smith, M.O., Sherman, I. L., Miller, L. C. & Robbins, K. R. (1995). Relative Biological Availability of Manganese from Manganese Proteinate, Manganese Sulfate, and Manganese Monoxide in Broilers Reared at Elevated Temperatures. *Poultry Science*, 74, 702-707.
25. Southern, L. L. & Baker, D. H. (1983). Excess manganese ingestion in the chick. *Poultry Science*, 62, 642-646.
26. Sunder, S. G., Vijay Kumar, Ch., Panda, A.K., Raju, M. V. L. N. & Rama, S.V. (2012). *Current Research in Poultry Science*, 10, 3923, 1-11.
27. Wang, C., Wang, M. Q., Ye, S. S., Tao, W. J. & Du, Y. J. (2011). Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. *Poultry Science*, 90, 2223-2228.
28. Watts, D. (1990). The Nutritional Relationships of Manganese. *Journal of Orthomolecular Medicine*, 5(4), 219-222.
29. Watson, L. T., Ammerman, C. B., Miller, S. M. & Harms, R. H. (1971). Biological availability to chicks of manganese from different inorganic sources. *Poultry Science*, 50, 1693-1700.
30. Wong-Valle, J., Ammerman, C. B., Henry, P. R., Rao, P. V. & Miles, R. D. (1989). Bioavailability of manganese from feed grade manganese oxides for broiler chicks. *Poultry Science*, 68, 1368-1373.
31. Zhou, X. & Wang, Y. (2011). Influence of dietary nano elemental selenium on growth performance, tissue selenium distribution, meat quality, and glutathione peroxidase activity in Guangxi Yellow chicken. *Poultry Science*, 90, 680-686.