

## تأثیر نانوسلیور و ضدغونی کننده‌های خواراک بر عملکرد، جمعیت میکروبی روده و کلسترونل زرده مرغ تخم‌گذار

فتح‌اله نقی‌زاده<sup>۱</sup>، محمد امیر کریمی ترشیزی<sup>۲\*</sup> و شعبان رحیمی<sup>۳</sup>

(E-mail: karimitm@modares.ac.ir)

تاریخ وصول: ۹۰/۶/۱۴ و تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۹

### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر ضدغونی کننده‌های مختلف خواراک بر عملکرد، فلور میکروبی روده و کلسترونل تخم مرغ با استفاده از ۱۰۸ قطعه مرغ تخم‌گذار از سن ۲۴ تا ۳۶ هفتگی انجام شد. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار انجام شد. گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: جیوه پایه (شاهد) و جیوه پایه مکمل شده با یکی از افزودنی‌های نانوسلیور در خواراک (۱۵ ppm)، فورمایسین (۲۰۰ ppm)، فرمالین (۲۰۰ ppm) و نانوسلیور در آب آشامیدنی (۷/۵ ppm). هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر درصد تولید و وزن تخم مرغ وجود نداشت. مصرف فورمایسین بالاترین وزن توده تخم مرغ را موجب شد ( $P < 0.05$ ). بین دو روش استفاده از نانوسلیور، تفاوت معنی‌داری از نظر درصد تولید، وزن تخم مرغ و وزن توده تخم مرغ مشاهده نشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک در سکوم تحت تأثیر نانوسلیور و فرمالین در مقایسه با گروه‌های شاهد و فورمایسین افزایش یافت ( $P < 0.01$ ). همه افزودنی‌های مورد آزمایش در مقایسه با شاهد، باکتری‌های گرم منفی ایلثوم را کاهش دادند ( $P < 0.01$ ). افزودن فورمایسین به جیوه و نانوسلیور در آب موجب افزایش کلسترونل زرده شد ( $P < 0.01$ ). نتایج نشان داد که افزودن فرمالین و نانوسلیور به خواراک مرغ‌های تخم‌گذار، موجب کاهش بار میکروبی دستگاه گوارش و بهبود تولید می‌شود.

**کلمات کلیدی:** ضدغونی کننده‌ها، کلسترونل زرده، فلور میکروبی روده، نانوسلیور

۱ - دانشآموخته کارشناسی ارشد گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران

۲ - استادیار گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران (نویسنده مسئول مکاتبات<sup>\*</sup>)

۳ - استاد گروه پرورش و تولید طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران - ایران

## مقدمه

میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برد. این فرآورده تأثیر میکروبکشی قوی روی گونه‌های سالمونلا، استرپتوكوکوس، کامپیلوباکتر و کلستریدیوم در مواد خام خوراک حیوانات دارد (۲). در تحقیقات متعدد استفاده از مکمل اسیدهای آلی در جیره مرغ‌های تخم‌گذار باعث افزایش عملکرد شده است (۳).

۲۰.

میکروارگانیسم‌های دستگاه گوارش نقش مهمی در هضم چربی‌ها در بدن دارند (۱۳). کلسترول پیش‌ساز اصلی نمک‌های صفراءوی در بدن می‌باشد. در دستگاه گوارش، نمک‌های صفراءوی کونژوگه شده به‌وسیله آنزیم‌های میکروبی مورد حمله قرار می‌گیرند و به متابولیت‌های مختلف تبدیل می‌شوند. حضور میکروارگانیسم‌های خاصی مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۴</sup> در روده، از جذب دوباره نمک‌های اولیه صفراءوی جلوگیری می‌کنند. از سوی دیگر نشان داده شده که میکروارگانیسم‌هایی مانند باسیلوس سوبتیلیس<sup>۵</sup> و باسیلوس لیکنیفورمیس<sup>۶</sup> قادر به ساخت آنزیم استراز در کنار آنزیم لیپاز هستند که می‌تواند نوع اسیدهای چرب آزاد روده را تغییر داده و درنهایت باعث کاهش جذب و انتقال تری‌کلیسریدها به پلاسمما شود. به‌طورکلی، تغییر نمک‌های صفراءوی توسط باکتری‌ها (عمدتاً دکونژوگه شدن) سبب کاهش در جذب طبیعی چربی می‌شود و همچنین، نمک‌های صفراءوی دکونژوگه در روده جذب نشده و از راه مدفعه دفع می‌شوند (۱۳).

طی تحقیقاتی، سطوح ۰/۸ و ۱/۶ ppm نانوسیلور بر عملکرد و خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی را بدون تأثیر گزارش نمودند (۲۴). از آنجا که تاکنون گزارشی از چگونگی اثر احتمالی ترکیبات ضدغونی کننده خوراک بر میزان کلسترول تخم‌مرغ منتشر نشده است و از طرفی با توجه به بررسی منابع، تأثیر ژرف فلور میکروبی بر هضم و جذب چربی‌ها در حیوانات محرز می‌باشد. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر نانوسیلور در مقایسه با سایر ضدغونی کننده‌های

باتوجه به احتمال آلدگی‌های قارچی و باکتریایی خوراک طیور و تأثیر آن بر سلامت و عملکرد این پرندگان، کنترل آلدگی‌دان و میکروارگانیسم‌های مضر از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. خط اول دفاع علیه این مخاطرات تهیه مواد خوراکی با کیفیت بالا و تا حد امکان عاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد. صنعت پرورش دام باید از مواد افزودنی که جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند استفاده کند. با من نوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرك رشد در برخی جوامع، امروزه استفاده از ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته است. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک، عصاره‌های گیاهی، اسیدهای آلی و فرمالین ترکیباتی می‌باشند که با کاهش تجمع پاتوژن‌ها در دیواره روده باعث کاهش تولید ترکیبات سمی توسط آنها و تغییر در مرفلوژی دیواره روده و بهبود هضم و جذب و درنهایت افزایش عملکرد می‌گردد (۷).

نانو نقره یک ترکیب ضدغونی کننده می‌باشد که بر روی ترکیبات غشاهای باکتریایی اثر می‌گذارد و منجر به تغییر ساختار و درنتیجه مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شود. حساسیت و عدم پایداری باکتری‌های ای. کولای<sup>۱</sup>، استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۲</sup> و باسیلوس سوبتیلیس<sup>۳</sup> به نانو نقره ثابت شده است (۴). این ماده از طریق اختلال در آنزیم‌های تنفسی و سیستم انتقال الکترون و همچنین با چسبیدن به سطح باکتری‌ها و تغییر ساختار غشاء باعث مرگ باکتری‌ها می‌شود (۱۷ و ۲۲). این ذرات به عنوان حامل اکسیژن عمل می‌نمایند و از این راه باعث کاهش میکروارگانیسم‌های بی‌هوایی و همچنین موجب افزایش در جمعیت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی زندگی در حضور فشار اکسیژن تقلیل یافته را دارند مخصوصاً لاکتوباسیل‌ها می‌گردد (۹ و ۱۹).

فورمایسین ترکیبی تجاری است که از اسید پروپیونیک، فرمالدئید، بتونایت سدیم و آمونیاک ساخته شده و اغلب

4 - *Lactobacillus acidophilus*5 - *Bacillus subtilis*6-*Bacillus licheniformis*1 - *E. coli*2 -*Staphylococcus aureus*3- *Bacillus subtilis*

تکان داده شدند. یک میلی‌لیتر از محلول به دست آمده با آب نمک (دو درصد) به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر آب نمک (دو درصد)، یک میلی‌لیتر معرف آنزیمی و مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول نمونه در میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری با هم مخلوط شد. استاندارد کلسترول با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر استفاده شد. برای تهیه بلانک، به جای استاندارد یا نمونه از ۱۰ میکرولیتر آب دیونیزه استفاده شد. میکروتیوب‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس در حمام آب گرم قرار گرفتند و پس از این مدت، جذب نور در طول موج ۵۴۶ نانومتر در برابر بلانک اندازه‌گیری شد (۱۶). مقادیر جذب نور ثبت شده با استفاده از استاندارد کلسترول به غلظت کلسترول در واحد وزن زردۀ تبدیل شد.

در پایان آزمایش (۳۶ هفتگی) از هر واحد آزمایشی یک قطعه مرغ به‌طور تصادفی انتخاب و یک گرم از محتویات ایلئوم و سکوم آنها در شرایط بدون آبودگی برداشته شد. سری رقت با استفاده از بافر PBS تهیه و شمارش باکتری‌های منتخب به روش قطره‌ای و محیط‌های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد. باکتری‌های اسید لاكتیک در محیط کشت ام. آر. اس. آگار<sup>۱</sup> و باکتری‌های گرم منفی روده‌ای در محیط کشت مک کانکی آگار<sup>۲</sup> کشت گردیدند. پرگنه‌های ظاهر شده پس از ۲۴ الی ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷<sup>°C</sup> شمارش شدند (۲۰).

یافته‌های آزمایشی با استفاده طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار و توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹.۱.۳) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده شد.

## نتایج

هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر درصد تولید و وزن تخم‌مرغ وجود نداشت (جدول ۱). نوع افزودنی بر وزن توده تخم‌مرغ تولیدی اثر معنی‌داری داشت.

خوراک دام و طیور بر بروز تغییرات در فلور میکروبی دستگاه گوارش و تأثیر آن بر عملکرد و محتوای کلسترول تخم‌مرغ طراحی و انجام شده است.

## مواد و روشها

در این آزمایش، تعداد ۱۰۸ قطعه مرغ تخم‌گذار نژاد لوهمن (LSL) با سن ۲۴ هفته استفاده شد. پرندگان جیره و آب تیمار شده با ترکیبات افزودنی ذیل را به مدت ۱۲ هفته مصرف نمودند: جیره پایه (شاهد) و جیره پایه مکمل شده با یکی از افزودنی‌های نانوسیلور در خوراک (۱۵ ppm)، فورمایسین (۲۰۰ ppm)، فرمالین (۲۰۰ ppm) و نانوسیلور در آب آشامیدنی (۷/۵ ppm). انتخاب مقدار مصرف نانوسیلور در آب آشامیدنی براساس توصیه شرکت سازنده (نانونصب پارس، تهران) بود و مقدار دو برابر آن جهت مصرف در دان در نظر گرفته شد.

برای تعیین متوسط وزن تخم‌مرغ‌های تولید شده، در هر هفته تخم‌مرغ‌های تولیدی دو روز متوالی هر واحد آزمایشی توزین و میانگین آن به عنوان متوسط وزن تخم‌مرغ ثبت شد. تعداد تخم‌مرغ‌های تولیدی هر واحد آزمایشی به صورت روزانه شمارش و ثبت شد. درصد تولید با توجه به تعداد تخم‌مرغ‌های تولیدی و تعداد مرغ‌های مربوط به هر واحد آزمایشی محاسبه شد. از حاصل ضرب متوسط وزن تخم‌مرغ در هر واحد آزمایشی در درصد تولید همان واحد وزن توده تخم‌مرغ تولیدی روزانه محاسبه شد. خوراک مصرفی پرندگان هر واحد آزمایشی به صورت هفتگی از تفاضل کل دان ارائه شده روزانه و دان باقی مانده در پایان همان هفته تعیین شد. ضریب تبدیل خوراک به تخم‌مرغ برای هر واحد آزمایشی از تقسیم کل خوراک مصرفی در هر هفته بر وزن توده تخم‌مرغ تولیدی در همان هفته محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری میزان کلسترول زردۀ، کل تخم‌های تولید شده هر واحد آزمایشی در دو روز متوالی جمع‌آوری شد. اندازه‌گیری کلسترول زردۀ به روش آنزیمی و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) انجام شد. بدین منظور سه گرم زردۀ به ۲۷ میلی‌لیتر آب نمک (دو درصد) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت دو ساعت توسط دستگاه شیکر به شدت

1 - MRS agar, Merck, Germany

2-Mac Conkey agar, Merck, Germany

و میزان مصرف خوراک گروههای دریافت‌کننده فرمالین و نانوسیلور (در آب و خوراک) با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.01$ ). بین دو شیوه کاربرد نانوسیلور در آب آشامیدنی و خوراک تفاوتی از نظر مصرف خوراک مشاهده نشد. کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروههای سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار داشت ( $P < 0.01$ ).

به طوری که استفاده از فورمایسین بالاترین مقدار توده تخمرغ را موجب شد ( $59/54$  گرم در روز) که با گروه دریافت‌کننده نانوسیلور در آب آشامیدنی ( $56/72$  گرم در روز) اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0.05$ ). بین دو روش استفاده از نانوسیلور، تفاوت معنی‌داری از نظر درصد تولید، وزن تخمرغ و وزن توده تخمرغ مشاهده نشد. افزودن نانوسیلور و فرمالین به جیره در مقایسه با تیمار شاهد موجب کاهش معنی‌دار مصرف خوراک شد ( $P < 0.01$ ).

جدول ۱ - میانگین درصد تولید، وزن تخمرغ، وزن توده تخمرغ، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف

تیمار	تولید تخمرغ (درصد)	وزن تخمرغ (گرم)	وزن توده تخمرغ (گرم/روز)	خوراک مصرفی (گرم/روز)	ضریب تبدیل غذایی
شاهد	۹۶/۹۱±۰/۲۱	۵۹/۳۷±۱/۱۴	۵۷/۵۴±۰/۴۴ <sup>ab</sup>	۱۱۶/۳۷±۰/۸۴ <sup>a</sup>	۲/۰۲±۰/۰۸ <sup>a</sup>
فرمالین	۹۷/۲۴±۰/۰۱	۵۸/۹۹±۱/۰۴	۵۷/۳۵±۰/۴۴ <sup>ab</sup>	۱۱۳/۱۰±۰/۸۴ <sup>b</sup>	۱/۹۷±۰/۰۱ <sup>ab</sup>
فورمایسین	۹۶/۷۴±۰/۰۱	۶۱/۵۲±۱/۱۸۲	۵۹/۵۴±۲/۰۰ <sup>a</sup>	۱۱۵/۱۰±۱/۷۰ <sup>ab</sup>	۱/۹۳±۰/۰۴ <sup>c</sup>
نانوسیلور در آب	۹۷/۱۳±۰/۰۰	۵۸/۴۰±۰/۷۰	۵۶/۷۲±۰/۷۷ <sup>b</sup>	۱۱۱/۱۷±۰/۷۱ <sup>b</sup>	۱/۹۷±۰/۰۲ <sup>ab</sup>
نانوسیلو در خوراک	۹۷/۰۹±۰/۰۱	۵۹/۳۴±۰/۰۵	۵۷/۶۱±۰/۳۱ <sup>ab</sup>	۱۱۰/۹۹±۰/۳۶ <sup>b</sup>	۱/۹۲±۰/۰۱ <sup>c</sup>
معنی‌داری	ns	ns	ns	ns	ns

<sup>a-c</sup>- تفاوت میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی‌دار است ( $P < 0.01$ :  $P < 0.05$ :  $P > 0.05$ :  $P > 0.01$ : ns:  $P > 0.01$ ).

آشامیدنی بود. در مقایسه دو روش استفاده از نانوسیلور تفاوت معنی‌داری در فراوانی باکتری‌های اسیدلاکتیک و گرم منفی روده‌ای در محتويات ایلئوم و سکوم مشاهده نشد. گرچه تمامی افزودنی‌های مورد استفاده در مقایسه با شاهد موجب افزایش در محتوى کلسترول زرده شدند، اما این افزایش تنها در گروههای فورمایسین و نانوسیلور در آب معنی‌دار بود ( $P < 0.01$ ). کمترین میزان کلسترول در زرده تخم مرغ‌های گروه شاهد (۱۱/۰۸ mg/g) و بیشترین مقدار آن در گروه فورمایسین (۱۴/۶۶ mg/g) مشاهده شد. با وجودی که اثر نانوسیلور در آب آشامیدنی یا خوراک بر میزان کلسترول زرده معنی‌دار نبود، با این حال کمترین میزان کلسترول در هر گرم زرده مربوط به روش استفاده نانوسیلور در خوراک بود.

همه ضد عفونی کننده‌ها در مقایسه با شاهد موجب کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در ایلئوم گردیدند ( $P < 0.01$ ) (جدول ۲). کمترین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک ایلئوم در گروه دریافت‌کننده فورمایسین مشاهده شد که با افزودنی‌های دیگر تفاوت معنی‌داری داشت ( $P < 0.01$ ). تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک سکوم در کلیه افزودنی‌های مورد استفاده افزایش یافت ( $P < 0.01$ ، البته این افزایش در گروه دریافت‌کننده فورمایسین معنی‌دار نبود). همه افزودنی‌های مورد آزمایش در مقایسه با شاهد تعداد باکتری‌های گرم منفی محتويات ایلئوم را کاهش دادند ( $P < 0.01$ ). هیچ‌کدام از افزودنی‌ها تأثیر معنی‌داری بر تعداد باکتری‌های گرم منفی سکوم نداشتند، با این حال کمترین تعداد باکتری‌های گرم منفی مربوط به گروه نانوسیلور در آب

جدول ۲ - جمعیت باکتریایی در سکوم و ایلئوم و مقدار کلسترول زرده تخم مرغ

کلسترول زرده (mg/g)	بار میکروبی دستگاه گوارش						تیمار	
	گرم منفی‌های روده‌ای			(log CFU/g)				
	سکوم	ایلئوم	سکوم	ایلئوم	سکوم	ایلئوم		
۱۱/۰۸±۰/۵۹ <sup>c</sup>	۵/۶۹±۰/۷۲	۶/۹۶±۰/۹۰ <sup>a</sup>	۴/۶۶±۰/۵۲ <sup>c</sup>	۶/۹۶±۰/۰۴ <sup>a</sup>			شاهد	
۱۲/۷۵±۱/۰۶ <sup>b</sup>	۶/۲۷±۱/۳۸	۵/۶۰±۲/۳۵ <sup>b</sup>	۶/۲۹±۱/۵۹ <sup>a</sup>	۵/۹۰±۰/۶۶ <sup>b</sup>			فرمالین	
۱۴/۶۶±۰/۳۶ <sup>a</sup>	۶/۱۰±۰/۶۸	۴/۳۷±۲/۳۱ <sup>c</sup>	۵/۳۹±۱/۳۰ <sup>bc</sup>	۴/۵۳±۲/۵۲ <sup>c</sup>			فورمایسین	
۱۳/۷۲±۰/۷۶ <sup>ab</sup>	۵/۴۵±۰/۴۳	۵/۱۶±۰/۶۷ <sup>ab</sup>	۵/۵۱±۰/۴۷ <sup>ab</sup>	۵/۷۵±۰/۶۸ <sup>b</sup>			نانو سیلور در آب	
۱۲/۷۹±۰/۵۰ <sup>bc</sup>	۵/۷۵±۰/۴۸	۵/۶۳±۰/۲۳ <sup>b</sup>	۶/۳۵±۰/۴۳ <sup>a</sup>	۵/۷۸±۰/۴۴ <sup>b</sup>			نانو سیلور در خوراک	
**		ns	**	**	**	**	معنی داری	

<sup>a-c</sup> - تفاوت میانگین‌های با حروف غیر مشابه در هر ستون معنی‌دار است (ns: P > 0/05, \*: P < 0/05, \*\*: P < 0/01).

فورمایسین می‌تواند به دلیل فراهمی مواد مغذی بیشتر به خاطر خاصیت میکروب‌کشی قوی این ماده در دستگاه گوارش باشد که باعث کاهش باکتری‌های بیماری‌زا و همچنین کاهش رقابت در مواد مغذی بین میزبان و کل باکتری‌های موجود در دستگاه گوارش می‌گردد. نتایج شمارش باکتری‌های محتویات دستگاه گوارش این موضوع را تأیید می‌نماید (جدول ۲). لازم به ذکر است که در اغلب آزمایش‌های دیگر، اسیدهای آلی به صورت خالص و بدون ترکیبات همراه آزمایش شده‌اند، درحالی‌که در مطالعه حاضر از فورمایسین که علاوه بر اسید آلی، دارای بنتونایت سدیم نیز می‌باشد استفاده گردید، لذا بخشی از افزایش وزن و کل توده تخم مرغ می‌تواند به دلیل وجود این ماده باشد. بهویژه در مطالعات مختلف گزارش شده است که بنتونایت سدیم باعث استفاده بهتر از انرژی و پروتئین و افزایش مدت زمان عبور خوراک از دستگاه گوارش و درنتیجه بهبود هضم مواد مغذی می‌شود (۱۸). همچنین، نقش بنتونایت سدیم در کاهش اثرات سمی مایکوتوكسین‌ها نیز اثبات شده است (۱۶). به نظر می‌رسد حداقل بخشی از اثرات

## بحث

در مطالعات مختلف عدم تأثیر افزودن اسیدهای آلی بر وزن تخم مرغ تولیدی مشاهده شده است (۲۳). همچنین در این آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف از نظر وزن تخم مرغ وجود نداشت، اما گروه مصرف‌کننده فورمایسین دارای بیشترین وزن تخم مرغ بود. در این آزمایش، تأثیر افزودنی‌های مورد بررسی بر وزن توده تخم مرغ که خود تابع درصد تولید و وزن تخم مرغ است، معنی‌دار شده است. وزن تخم مرغ در مقایسه با درصد تولید، تأثیر افزودنی‌ها را بیشتر نشان داد (جدول ۱). به عبارت دیگر، وزن تخم مرغ در مقایسه با درصد تولید شاخص حساس‌تری است. مرغ تخم‌گذار قادر است انرژی و مواد مغذی را بین دو هدف تولید تخم مرغ (حفظ درصد تولید) و افزایش وزن تخم مرغ، مدیریت و تقسیم نماید و در این بین اولویت را به درصد تولید می‌دهد. چنانچه دریافت مواد مغذی فراتر از نیاز برای تولید باشد، در این صورت شاهد افزایش وزن تخم مرغ‌های تولیدی خواهیم بود (۶). افزایش وزن توده تخم مرغ در گروه دریافت‌کننده

خوراک حیوانات دارد (۲). این تأثیرات می‌تواند به علت وجود فرمالین و اسید پروپیونیک در ساختار فورمایسین باشد. به طور مشابه در تعدادی از گزارش‌ها با افزودن اسیدهای پروپیونیک، فرمیک و لاکتیک در جیره، تعداد باکتری‌های کلی فرم و سالمونلا در طیور به طور مؤثری کاهش یافت (۵). فرمالین یک ضدغذوئی کننده بسیار قوی می‌باشد که اکثر باکتری‌ها را می‌کشد. تعداد کمتر باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار فورمایسین در مقایسه با فرمالین نیز ممکن است به دلیل جذب و خشندن فرمالین موجود در خوراک قبل از رسیدن به ایلئوم باشد. در حالی که ساختار فورمایسین به شکلی است که فعالیت ضدمیکروبی خود را در محیط دستگاه گوارش حفظ می‌نماید. در تحقیقی با افزودن اسیدهای آلی به جیره خوک‌ها کاهش تراکم باکتری‌های اسیدلاکتیک در قسمت‌های انتهایی روده باریک را گزارش نمودند (۱۵). همچنین، گزارش شده است که افزودن اسیدهای آلی در خوراک علاوه بر کاهش باکتری‌ها در روده کوچک، شمارش باکتری‌ها در سکوم را نیز کاهش داده است (۱۰ و ۱۱).

فعالیت ضدمیکروبی نقره از طریق بلوکه کردن سیستم انتقال الکترون، تغییر عملکرد غشای باکتریایی و ممانعت از همانندسازی DNA آشکار شده است. تقابل بین یون‌های نقره با گروه‌های تیول در آنزیم‌ها و پروتئین‌ها نقش اساسی در فعالیت ضدمیکروبی یون‌های نقره بازی می‌کنند، اگرچه دیگر ترکیبات سلول‌ها مانند پیوندهای هیدروژن نیز ممکن است درگیر باشد (۲۱). همچنین در این آزمایش، نانوذرات نقره سبب کاهش معنی‌داری در کل باکتری‌ها و تعداد باکتری‌های گرم منفی در قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش به جز سکوم شدند. در آزمایشی تأثیر هیدروکلوریک نانوذرات نقره بر جمعیت میکروبی سکوم روده بلدرچین ژاپنی را بررسی کردند، مشابه نتایج آزمایش حاضر، نانوذرات نقره تأثیری بر تعداد باکتری‌های گرم منفی سکوم بلدرچین نداشتند (۱۹). این نتایج می‌توانند به دلیل ترکیب ذرات فلز نقره با HCl و تولید AgCl به هنگام عبور از معده باشد و بنابراین سبب کاهش ویژگی‌های ضدمیکروبی آن شود (۴). به هرحال، انجام این فرایند به سختی با فلز نقره ممکن است روی دهد. در حقیقت اثر اصلی HCl بر نانو ذرات نقره بستگی به pH

سودمند حاصل از مصرف فورمایسین ناشی از ویژگی جذب سوم قارچی به دلیل وجود بتونایت سدیم در آن باشد (۱۱ و ۱۸). مطالعات اندکی در مورد تأثیر نانوسیلولر بر عملکرد حیوانات (به خصوص مرغ تخم‌گذار) درنتیجه مصرف این ماده صورت گرفته است. در این آزمایش مشاهده شد که نانوسیلولر در خوراک نسبت به نانوسیلولر در آب تأثیر بهتری بر عملکرد داشته است، هرچند که این تأثیر فقط در میزان توده تخمر مرغ تولیدی معنی‌دار بود. عملکرد بهتر گروه نانوسیلولر در خوراک نسبت به گروه نانوسیلولر در آب می‌تواند به دلیل رقیق شدن ماده مؤثره آن هنگام استفاده در آب باشد، که سبب کاهش فعالیت ضدمیکروبی آن نسبت به نانوسیلولر در خوراک می‌شود. همچنین، در آزمایش صورت گرفته، افزودن نانوسیلولر به خوراک، هیچ تأثیری بر عملکرد و افزایش وزن بدن خوک‌ها در مقایسه با شاهد نداشت (۲۶).

کاهش ضربیت تبدیل غذایی در گروه‌های دریافت‌کننده افزودنی‌ها در مقایسه با گروه شاهد می‌تواند به علت تأثیر توأم این ترکیبات بر خوراک مصرفی و وزن توده تخمر مرغ باشد. گزارش شده است که فورمایسین سبب، بهبود ضربیت تبدیل خوراک پرنده‌گان و کاهش شیوع بیماری‌های روده‌ای، ضدغذوئی مؤثر دستگاه گوارش، بهبود سلامتی پرنده‌گان، افزایش وزن‌گیری روزانه، افزایش عملکرد و تنظیم فلور طبیعی دستگاه گوارش پرنده می‌شود (۱). در تحقیقات متعدد استفاده از مکمل اسیدهای آلی در جیره مرغ‌های تخمر گذار باعث افزایش وزن زنده، تولید روزانه تخمر مرغ، ضربیت تبدیل و بازده اقتصادی شد (۳ و ۲۲). مشابه نتایج حاضر، در آزمایش‌های انجام شده بر روی حیوانات، افزودن نانوسیلولر به خوراک سبب کاهش مقدار خوراک مصرفی و بهبود در ضربیت تبدیل غذایی شده است که می‌تواند به دلیل خاصیت ضد میکروبی قوی این ماده باشد که سبب کاهش تولید ترکیبات سمی توسط باکتری‌ها، تغییر در مورفولوژی دیواره روده و کاهش تجمع پاتوژن‌ها در دیواره روده شود (۸).

در این مطالعه استفاده از فورمایسین باعث کاهش در تعداد باکتری‌های گرم منفی و اسیدلاکتیک شد (جدول ۲). فورمایسین تأثیر میکروب کشی قوی روی گونه‌های سالمونلا، استرپتوكوکوس، کامپیلوتاکتر و کلستریدیا در مواد خام

استفاده بیشتر از کلسترول بدن حیوان جهت ساخت نمک‌های صفراء می‌گردد.

از سوی دیگر، جایگاه اصلی کنترل متابولیکی بیوسنتر کلسترول در تشکیل موالونیک اسید از طریق آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاریل کوازنز آ<sup>۱</sup> ردوکتاز می‌باشد. چندین عامل مختلف برای کنترل میزان فعالیت این آنزیم مشخص شده است که شامل عوامل تغذیه‌ای (سطوح چربی و کلسترول جیره) و هورمونی می‌باشد. علاوه بر این برخی فراورده‌های باکتریایی (پروبیوتیک‌ها) می‌توانند از فعالیت آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاریل کوازنز آ ردوکتاز ممانعت کنند (۱۲). افزایش در میزان کلسترول زرده در گروه‌های تغذیه شده با افروندنی‌های ضد عفونی کننده می‌تواند به دلیل افزایش جذب مواد مغذی به ویژه چربی‌ها باشد. ترکیبات ضد عفونی کننده شمار جمعیت میکروبی، تولیدات سمی و سایر محصولات فرعی آنها در مجرای گوارش را کاهش می‌دهند و بنابراین به واسطه جلوگیری از افزایش ضخامت نواحی جذب دستگاه گوارش در بهبود جذب مواد مغذی مؤثر هستند (۱۰ و ۲۵). همچنین تأثیر ضد عفونی کننده‌ها بیشتر بر روی باکتری‌های گرم مثبت مانند لاکتوپاسیلوس‌ها، استرپتوكوکوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها می‌باشد و در باکتری‌های یاد شده فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراء به اثبات رسیده است. کاهش در جمعیت و فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک توسط آنتی‌بیوتیک‌ها مشخص شده است که این فعالیت‌ها غالباً در قسمت‌های بالایی دستگاه گوارش می‌باشد (۶). بنابراین کاهش در تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک ممکن است یکی از علل افزایش در میزان کلسترول زرده تخم مرغ، مرغ‌های تغذیه شده با ترکیبات ضد عفونی کننده دان باشد. با توجه به اینکه در تحقیقات اخیر ذخیره نانو ذرات نقره در بافت‌های خوارکی جوجه‌های گوشتشی (عضله سینه و جگر) گزارش شده است، پیشنهاد می‌شود قبل از کاربرد صنعتی این فراورده در تغذیه مرغ تخم‌گذار ذخیره و انتقال احتمالی آن به تخم مرغ بررسی شود (۲۴).

دستگاه گوارش دارد و معمولاً در یک محیط آزمایشگاهی با pH برابر سه، به دو ساعت زمان برای ترکیب شدن نیاز است. همچنین این امکان نیز وجود دارد که بخشی از نقره در روده کوچک قبل از رسیدن به اینثوم جذب شده باشد. اما در بررسی میزان نقره بافت‌ها، این دلیل چندان قانع کننده نمی‌باشد (۸). مشابه با نتایج این آزمایش، در آزمایشی دیگر نانو سیلور سبب کاهش معنی داری در تعداد کل باکتری‌ها، باکتری‌های گروه کلستریدیها و همچنین کاهش جزئی در تعداد لاکتوپاسیل‌ها شد (۸). همچنین استفاده از نانو نقره در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب افزایش در تعداد لاکتوپاسیل‌های سکوم گردید (۱۹). در مطالعه حاضر نیز هیچ تغییری در تعداد باکتری‌های مختلف در سکوم مشاهده نشد، به استثنای باکتری‌های اسید لاکتیک که افروندنی‌های مختلف سبب افزایش تعداد این باکتری‌ها در سکوم گردیدند. این احتمال وجود دارد که این مواد با کاهش باکتری‌های بیماری‌زا در دستگاه گوارش سبب کاهش رقابت بین گونه‌های مختلف باکتریایی و در نتیجه افزایش در تعداد لاکتوپاسیل‌ها شده است. در بین دو نوع استفاده از نانو سیلور گروه مصرف کننده نانو سیلور در خوارک تأثیر بیشتر را نسبت به گروه نانو سیلور در آب داشت، که این ممکن است به دلیل واکنش آشامیدنی مانند کلر و گوگرد باشد، که باعث کاهش در میزان فعالیت ضد میکروبی نانوذرات محلول در آب شده است.

در این آزمایش مشاهده شد گروه‌هایی که کمترین تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک را در روده داشتند، دارای بیشترین مقدار کلسترول در زرده بودند (جدول‌های ۱ و ۲). در تعدادی از مطالعات صورت گرفته مشخص شده است که وجود باکتری‌های لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس و یا دو گونهٔ پاسیلوس سوتیلیس و پاسیلوس لیکنیفورمیس باعث کاهش میزان کلسترول تخم مرغ شده است (۱۳). کاهش در میزان کلسترول توسط این سویه‌ها می‌تواند به دلیل توان برخی سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک در متابولیسم کلسترول و ساخت غشای باکتریایی با استفاده از آن باشد. علاوه بر این فعالیت هیدرولیز نمک‌های صفراء در روده توسط این باکتری‌ها نیز به اثبات رسیده است که به نوبه خود موجب

به طوری که نانو سیلور در خوارک عملکرد بهتری نسبت به نانو سیلور در آب داشت. استفاده از فرمالین در سطح ۰/۲ درصد در جبره مرغ های تخم گذار علاوه بر کنترل مطلوب بار میکروبی دستگاه گوارش و عدم تأثیر سوء بر عملکرد، کمترین مقدار کلسترول تخم مرغ را نسبت به دیگر ضد عفونی کننده های استفاده شده در این آزمایش داشت.

به طور کلی، در این آزمایش مشاهده شد که استفاده از کلوئید نانو سیلور ساخت داخل در هر دو نوع روش استفاده شده و فورماتیسین علاوه بر کاهش باکتری های گرم منفی دستگاه گواش هیچ تأثیر منفی در عملکرد مرغ های تخم گذار نداشت. این کاهش بار میکروبی با افزایش عملکرد (وزن توده تخم مرغ تولیدی) در پرندگان این گروه ها همراه بود. در دو روش استفاده از نانو سیلور نیز تفاوت هایی مشاهده شد

## References

- 1 . Adams CA (2004) Nutricines in poultry production: focus on bioactive feed ingredients. Nutritional Services Department, Kemin Europa, Belgium.
- 2 . Anonymous (2005) Permix for microbiologic control. IQF group [Online]. Available at: <http://Www.Vb.Iqf.Group>.
- 3 . Arun KP, Savaram VR, Mantena VLNR and Sita RS (2006) Dietary supplementation of *Lactobacillus sporogenes* on performance and serum biochemical-lipid profile of broiler chicken. Poultry Sci. 43: 235-240.
- 4 . Atiyeh BS, Costagliola M, Hayek SN and Dibo SA (2007) Effect of silver on burn wound infection control and healing. Burns 33: 139-148.
- 5 . Byrd JA, Hargis BM, Caldwell DJ, Bailey RH, Herron KL, McReynolds JL, Brewer RL, Anderson RC, Bischoff KM, Callaway TR and Kubena LF (2001) Effect of lactic acid administration in the drinking water during pre-slaughter feed withdrawal on *Salmonella* and *Campylobacter*. Poultry Sci. 80: 278-283.
- 6 . Coon CN (2000) Feeding commercial egg-type layers. In: Bell DD and Weaver Jr (Eds), Commercial chicken meat and egg production. Academic Publishers. Massachusetts. USA. Pp. 287-328.
- 7 . Cummings TS (1995) The effect of probiotics and antibiotics on the intestinal microflora of poultry. In: Proceedings of The 22nd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference. Carolina Feed Industry Association, Charlotte, NC. USA. Pp. 88-90.
- 8 . Fondevila M, Herrer R, Casallasa MC, Abeciaa L, Duchab JJ (2008) Silver nanoparticles as a potential antimicrobial additive for weaned pigs. Anim. Feed Sci. Technol. 150: 259-269.
- 9 . Grudzien M and Sawosz E (2006) The influence of silver nanoparticles on chick embryo development and bursa Fabricius morphology. Anim. Feed Sci. 15: 111-115.
- 10 . Gunal MG, Yayli OK, Karahan N and Sulak O (2006) The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. Int. J. Poult. Sci. 5: 149-155.
- 11 . Hebert JA, Barrio LF and Ingram DR (1986) Evaluation of sodium aluminosilicate in broiler feed. Poultry Sci. 65 (Supp. 1): 57.
- 12 . Kalavathy R, Abdullah N, Jalaludin S and Ho YW (2003) Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. Brit. Poultry Sci. 44:139-144.
- 13 . Mahdavi AH, Rahmani HR and Pourreza J (2005) Effect of probiotic supplements on egg quality and laying hen's performance. Int. J. Poult. Sci. 4: 488-492.
- 14 . Manafi M, Umakantha B, Narayana HD and Mohan K (2009) Evaluation of high-grade sodium bentonite on performance and immune status of broilers, fed aflatoxin and ochratoxin. World Mycotoxin. 2: 435-440.

- 15 . Maribo H, Jensen B and Hedemann S (2000) Different doses of organic acids to piglets. Danish Bacon and Meat Council, No. 469.
- 16 . Pasin G, Smith GM and Omahony MO (1998) Rapid determination of total cholesterol in egg yolk using commercial diagnostic cholesterol reagent. *Food Chem.* 61: 255-259.
- 17 . Percival SL, Bowler PG and Russell D (2005) Bacterial resistance to silver in wound care. *Hosp. Infect.* 60: 1-7.
- 18 . Santurio JM, Mallmann CA, Rosa AP, Appel G, Heer A, Degeforde S and Bottcher M (1999) Effect of sodium bentonite on the performance and blood variables of broiler chickens intoxicated with aflatoxins. *Brit. Poultry Sci.* 40: 115-119.
- 19 . Sawosz E, Binek M, Grodzik M, Ziellin SP, Szmidt M, Niemiec T and Chwaiibog A (2007) Influence of hydrocolloidal silver nanoparticles on gastrointestinal microflora and morphology of enterocytes of quails. *Arch. Anim. Nutr.* 61: 444-451.
- 20 . Soltan MA (2008) Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. *Int. J. Poult. Sci.* 7: 613-621.
- 21 . Sondi I and Sondi SB (2004) Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria. *Colloid Interf. Sci.* 275: 77-182.
- 22 . Waibel PE, Halvorson JC, Noll SL and Hoffbeck SL (1991) Influence of virginiamycin on growth and efficiency of large white turkeys. *Poultry Sci.* 70: 837-847.
- 23 . Yesilbag D and Colpan I (2006) Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Rev. Med. Vet.* 157: 5-280-284.
- 24 . Zargaran Esfahani H, Sharifi SD, Barin A and Afzal Zadeh, A (2010) Influence of silver nanoparticles on performance and carcass properties of broiler chicks. *Iranian J. Anim. Sci.* 41: 137-143.
- 25 . Zhang B and Guo Y (2007) Beneficial effect of tetrabasic zinc chloride for weanling piglets and the bioavailability of zinc in tetrabasic form relative to ZnO. *Anim. Feed Sci. Technol.* 135: 75-85.
- 26 . Zhou W, Kornegay ET, Lindemann MD, Swinkels JWGM, Welton MK and Wong EA (1994) Stimulation of growth by intravenous injection of copper in weanling pigs. *Anim. Sci.* 72: 2395-2403.

## Comparison of Nanosilver and in-Feed Disinfectants on Layer Performance and Intestinal Microflora and Yolk Cholesterol

F. Naghizadeh <sup>1</sup>, M. A. Karimi Torshizi <sup>\*2</sup> and S. Rahimi <sup>3</sup>

(E-mail: karimtm@modares.ac.ir)

### Abstract

This study was conducted to compare the effect of various commercial in-feed disinfectants on layer performance, intestinal microflora, and egg cholesterol. One hundred and eight layer hens (LSL, 24 Wks of age) were divided into six groups consisting: Control, Formycin-200 ppm, Formalin-200 ppm, and Nanosilver in feed-15 ppm or drinking water-7.5 ppm. There were no differences between experimental groups for egg production and egg weight. Formycin fed birds produce the highest egg mass ( $P < 0.05$ ). In comparison of the two methods of Nanosilver administration, no significant differences were observed for egg production, egg weight and egg mass. Lactic acid bacteria counts in caecal contents were significantly increased in comparison to control and Formycin fed groups ( $P < 0.01$ ). Gram negative counts in ileum contents were reduced by all additives, in comparison to control ( $P < 0.01$ ). Cholesterol content of egg was increased in response to Formycin and Nanosilver (in drinking water) ( $P < 0.01$ ). In conclusion, in-feed supplementation of Formalin and Nanosilver in laying hens' feed resulted in efficient control of intestinal microbial counts and simultaneously improved the egg yield.

**Keywords:** Disinfectants, Intestinal Microflora, Nanosilver, Yolk Cholesterol

1 - M.Sc. Student, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran – Iran

2 - Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran – Iran

(Corresponding Author \*)

3 - Professor, - M.Sc. Student, Department of Animal and Poultry Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modarres, Tehran – Iran