



تأثیر سطوح مختلف نانو سیلور با غلظت های مختلف بر خصوصیات بافت شناسی ایلنوم

اسحق نخبه زعیم^۱، جعفر یدی^{۲*}، ابوالفضل زارعی^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، گروه علوم دامی، کرج، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه دامپزشکی، ساوه، ایران

Email: amiryadi@yahoo.com

چکیده

نانو تکنولوژی را می توان به عنوان یک تکنولوژی نوآورانه و ابتکاری تعریف کرد که برای ایجاد مواد و تغییر ساختار، ارتقاء کیفیت و بافت مواد غذایی در سطح مولکولی استفاده می گردد. این تکنولوژی نقش عمده ای در تولید، پردازش، حمل و نقل ذخیره سازی، قابلیت ردیابی و ایمنی و امنیت مواد غذایی دارد.

پس از تهیه نانو سیلور جوجه ها را از سن ۱۱ روزگی تیمار بندی کرده و بسته به آزمایش مقادیر مختلف نانو سیلور که از قبل با غذای آن ها ترکیب شده (اسپری شده) در دسترس آن ها قرار داده و تا ۴۲ روزگی که سن کشتار است ادامه داده شد. سپس از هر تکرار ۲ جوجه انتخاب نموده و از نواحی مختلف روده (ایلنوم) که پس از جدا نمودن این قطعات داخل فرمالین به آزمایشگاه ارسال کرده و بررسی بافت شناسی و نیز پاتولوژیک این بافت صورت گرفت. در پایان با جمع آوری و مرتب کردن داده ها و با استفاده از نرم افزار آماری *spss19* آنالیز آماری انجام شد و آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن صورت پذیرفت. نتایج نشان داد که در تیمارهایی که از نانو سیلور به اندازه 50nm استفاده کرده بودند عرض پرز، ارتفاع پرز ضخامت عضله ی مخاطی و نیز عمق کریپت نسبت به تیمارهای دیگر کمتر بوده است.

کلمات کلیدی: نانو نقره، جوجه گوشتی، بافت شناسی، روده باریک.

مقدمه

در زمینه تأثیر نانو نقره بر فاکتورهای رشدی، فاکتورهای خونی، فلور میکروبی، باقیمانده نقره، سمیت روی بافت ها، جذب خوراک و سیستم ایمنی؛ مطالعاتی در ایران و جهان صورت گرفته است.

تأثیرات احتمالی یون های فلز نقره و نقره بیش از میکروارگانیزم های دستگاه گوارش به ندرت ثبت شده اند. واکنش انتخابی نقره در چنین اکوسیستمی با تنوع گسترده ای از گونه ها می تواند با همزیستی مثبت و یا اثرات منفی پاتوژنها اعمال شود که شایان توجه است. ترکیبات نقره در طول تاریخ برای کنترل تکثیر میکروبی مورد استفاده قرار گرفته است. (Wadhwa 2005)

به طور سنتی نقره و به طور عمده سولفات، نیترات یا کلرید به عنوان نمک استفاده می شود (فرم یونی). با این وجود کاتیون نقره کمتر بر معده و یا جریان خون تأثیر می گذارد و می تواند مجموعه ای را با لیگاندهای مختلف ایجاد نماید. نیترات نقره ناپایدار است و می تواند منجر به بافت سمی گردد. (Atiye 2007)

در مقابل فلز نقره به شکل محلول کلئید یا 5nm به ۱۰۰ از نانو ذرات ها برای اسید هیدروکلریک پایدار است و در حد پایین تری توسط سلول های یوکاریوتی جذب می شوند و در نتیجه حداقل خاصیت سمی را دارا بوده و در همان زمان خاصیت ضد میکروبی بالاتری اعمال می کند. (Choi 2008)



محققان نشان دادند که حتی نانو ذرات های نقره و یون های نقره به شکل نیترات نقره مکانیسم مشابهی را نشان دادند و غلظت کارآمدتری در سطح نانومولار و میکرومولار نیز به ترتیب ایجاد شد. (Look 2006)

تأثیر بالاتری از نانو ذرات های نقره بر روی باسیلوس نسبت به اشیشاکولی مشاهده نمودند و اثر ضد میکروبی انتخابی را ارائه نمودند که ممکن است مرتبط با ساختار غشایی باکتری باشد. با این وجود (Singh 2008) نیز فرضیه حساسیت بالاتر باکتری گرم منفی را با درمان نانو ذرات ها داشت. (Yoon 2007)

کاربرد دیگر نانو سیلور در افزایش رشد است. برای دستیابی به حداکثر عملکرد پس از تفریح بایستی توجه زیادی به رشد و نمو جنین صورت پذیرد. با توجه به اینکه دسترسی زودهنگام به خوراک موجب بهبود رشد و توسعه در جوجه های تازه متولد شده می شود و انتظار می رود؛ تغذیه جنین قبل از تفریح، از طریق وارد نمودن مواد غذایی به درون تخم مرغ، اثرات مثبتی بر رشد و توسعه دستگاه و گوارش و عملکرد جوجه های گوشتی داشته باشد. (Uni et al., 2005)

آنتی بیوتیک ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که به صورت بیولوژیکی توسط گیاهان یا بعضی میکروارگانیسم ها (معمولاً قارچ ها) تولید می شوند. این ترکیبات وقتی در دزهای پایین به جیره افزوده می شوند رشد را تحریک می نمایند. آنتی بیوتیک ها با محدود نمودن رشد باکتری های بیماری زا و ممانعت از رشد باکتری های تخریب کننده مواد مغذی و تولیدکننده آمونیاک و سایر محصولات نیتروژنی سمی در روده، سبب بهبود هضم و قابلیت دسترسی مواد مغذی شده و در نتیجه عملکرد و بازده غذایی را افزایش می دهند. (Scott et al., 1987)

در سالهای اخیر استفاده ی گسترده و اغلب بی رویه از آنتی بیوتیک ها در مزارع پرورش طیور به عنوان محرک رشد، موجب شیوع سویه هایی از میکروب های بیماریزای مقاوم به آنتی بیوتیک شده است که این امر اخیراً منتهی به ممنوعیت استفاده از این ترکیبات مهم در پرورش طیور شده است. (Sawosz et al, 2009)

نانو ذرات فلزاتی مانند نقره و آلیاژهای آن نیز، خواص بالقوه ای را به عنوان محرک های رشد به غیر از آنتی بیوتیک ها از خود نشان می دهند. (Studnicka et al., 2009)

مواد و روش ها

جوجه ها را از سن ۱۱ روزگی جدا کرده و در هر تکرار ۱۵ قطعه که مجموعاً ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی را در برمی گیرد. پن ها را بر اساس تکرار و تیمارهای مختلف شماره گذاری نموده و بسته به آزمایش مقادیر مختلف نانو سیلور که از قبل با غذای آن ها ترکیب شده است (اسپری شده است) را در دسترس آن ها قرار داده و هرروز تمامی تکرارها را چک نموده تا سن ۴۲ روزگی که سن کشتار است.

تمامی جوجه ها از نژاد راس ۴ منفی بوده که قبل از ورود به سالن، سالن ها را تجهیز نموده و ضد عفونی های مختلف نیز انجام شده و پس از اتمام کار ضد عفونی و تهیه ی بستر مناسب برای جوجه ها (پوشال) جوجه ها را وارد سالن نمودیم.

پس از اتمام دوره پرورش از هر تکرار ۲ جوجه کشتار شد و به ۵ تیمار ۴ تکرار هر تکرار ۱۵ جوجه گوشتی، سپس از نواحی مختلف روده باریک (ایلئوم) و نیز ابتدای روده بزرگ 5cm جدا شد و دو سر قطعه ی جدا شده را با نخ و سوزن بسته و با سرنگ فرمالین به داخل روده دوسر بسته شده تزریق شد و سپس به داخل فرمالین ۱۰٪ غوطه ور



نموده و پس از انتقال به آزمایشگاه از نمونه ها بلوک های پارافینی تهیه شد و سپس آن ها را با دستگاه میکروتوم برش داده پس از برش آن ها را رنگ امیزی کرده و لام تهیه شده را به وسیله ی میکروسکوپ مشاهده و اسلایدهای تهیه شده را از نظر بافت شناسی و نیز پاتولوژیک بررسی و پرزهای روده ، عمق پرزها ، تعداد پرزها و عمق کریپت مورد بررسی قرار داده شد. در پایان با جمع آوری و مرتب کردن داده ها با استفاده از نرم افزار آماری spss19 آنالیز آماری انجام شد و آزمون مقایسه میانگین ها نیز به روش دانکن محاسبه گردید.

نتایج و بحث

بررسی جدول نتایج مربوط به ایلئوم نشان داد که در تیمارهایی که از نانو سیلور به اندازه 50nm استفاده کرده بودند عرض پرز ، ارتفاع پرز ، ضخامت عضله ی مخاطی و نیز عمق کریپت نسبت به تیمارهای دیگر کمتر بوده است. همچنین جدول نشان می دهد که بیشترین میزان این فاکتورها در گروه شاهد مشاهده شده است فاکتورهای فوق نشان می دهند که میزان بازجذب غذایی در تیمارهایی که از نانو سیلور استفاده کرده اند نسبت به گروه شاهد بیشتر است که بیشترین اثر در تیمارهایی است که از نانو سیلور به اندازه 50nm استفاده کرده اند.

گروه ها	0.6ppm+50nm	0.4ppm+50nm	0.6ppm+100nm	0.4ppm+100nm	No nano silver
عرض پرز ایلئوم VVE	0.23±0.05	0.24±0.06	0.19±0.02	0.18±0.03	0.19±0.02
ارتفاع پرز ایلئوم VHE	0.39±0.09 ^b	0.56±0.06 ^a	0.65±0.14 ^{ab}	0.35±0.05 ^b	0.88±0.19 ^a
ضخامت عضله مخاطی ایلئوم MME	0.15±0.02 ^a	0.14±0.02 ^a	0.12±0.01 ^{ab}	0.10±0.01 ^b	0.24±0.07 ^a
عمق کریپت ایلئوم CDE	0.13±0.01 ^b	0.14±0.01 ^b	0.12±0.01 ^b	0.12±0.02 ^b	0.33±0.05 ^a

*صفات بررسی شده مختل ایلئوم در گروه های آزمایشی

تحلیل مقاطع بافتی دیوار اثنی عشری بدون هیچ تغییر آشکاری بین تغذیه بلدرچین با نانو نقره و گروه شاهد نشان داده شد و هیچ تغییری در ساختار بافت اپی تلیال وجود نداشت. استفاده از نانو نقره در غلظت 25 میلی گرم در کیلوگرم سبب افزایش در تعداد لاکتوباسیل های سکوم گردید. (Sawosz 2007)

میکروارگانسیم های دستگاه گوارش نقش مهمی در هضم چربی ها در بدن دارند. کلسترول پیش ساز اصلی نمک های صفراوی در بدن است. در دستگاه گوارش، نمک های صفراوی کونژوگه شده به وسیله آنزیم های میکروبی موردحمله قرار می گیرند و به متابولیت های مختلف تبدیل می شوند. حضور میکروارگانسیم های خاصی مانند لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روده، از جذب دوباره نمک های اولیه صفراوی جلوگیری می کنند. از سوی دیگر نشان داده شده که میکروارگانسیم هایی مانند باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لیکنیفورمیس قادر به ساخت آنزیم استراز درکنار آنزیم لپاز هستند که می تواند نوع اسیدهای چرب آزاد روده را تغییر داده و در نهایت باعث کاهش جذب و انتقال



تریگلیسریدها به پلاسما شود. به طور کلی، تغییر نمک های صفراوی توسط باکتری ها عمدتاً دکونزوگه شدن سبب کاهش در جذب طبیعی چربی می شود و همچنین، نمک های صفراوی دکونزوگه در روده جذب نشده و از راه مدفوع دفع می شوند. (Mahdavi et al., 2005).

نتیجه گیری کلی

۱. استفاده از نانو سیلور به اندازه 50nm و با غلظت 0.6ppm باعث کاهش عرض پرز، ارتفاع پرز، ضخامت عضله مخاطی و عمق کریپت در ایلتوم شده است که این عوامل باعث افزایش میزان باز جذب مواد غذایی و در نتیجه بهبود رشد می گردد..

منابع

1. Choi, O., Deng, K.K., Kim, N.J., Ross, L.Jr., Surampalli, R.Y., Hu, Z., 2008. The inhibitory effects of silver nanoparticles, silver ions and silver chloride colloids on microbial growth. *Water Research* 42, 3066-3074.
2. Lok, C.N., Ho, C.M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., Tam, P.K.H., Chiu, J.F., Che, C.M., 2006. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *Journal of Proteome Research* 5, 916-924.
3. 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
4. Sawosz E, Grodzik M, Zielinska M, Niemiec T, Olszanska B and Chalibog A, 2009. Nanoparticles of silver do not affect growth, development and DNA oxidative damage in chicken embryos. *Arch Geflügelkd* 73: 208-213.
5. 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.
6. Scott, D. F. & Michael, P. D. (1987). Subtherapeutic Levels of Antibiotics in Poultry Feeds and Their effects on Weight Gain, Feed Efficiency, and Bacterial Cholyltaurine Hydrolase Activity. *Applied and Environmental Microbiology*, Feb. pp. 331-336.
7. Studnicka, A., Sawosz., E. Grodzik, M. Balcerak M. and Chwalibog, A. (2009) Influence of nanoparticles of silver/ palladium alloy on chicken embryos' development. *Anim. Sci.* 63.
8. Uni, Z., Ferket, P. R., Tako, E. and Kedar, O. (2005) In ovo feeding improves energy status of late-term chicken embryos. *Poult. Sci.* 84:764-770.
9. Wadhera, A., Fung, M., 2005. Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver. *Dermatology Online Journal* 11, 12 (<http://dermatology.cdlib.org/111>).