مجله تولیدات دامی، دوره ۱۳، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰، ص ۵۸-۴۹

# تأثیر نانوسیلور و ضدعفونی‌کننده‌های خوراک بر عملکرد، جمعیت میکروبی روده و کلسترول زرده مرغ تخم‌گذار

فتح‌اله نقی‌زاده [۱]، محمد امیر کریمی ترشیزی [۲*] و شعبان رحیمی [۳]

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

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

## چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر ضدعفونی‌کننده‌های مختلف خوراک بر عملکرد، فلور میکروبی روده و کلسترول تخم‌مرغ 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: 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). هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی از نظر درصد تولید و وزن تخم‌مرغ وجود نداشت. مصرف فورمایسین بالاترین وزن توده تخم‌مرغ را موجب شد ($P<0/05$). بین دو روش استفاده از نانوسیلور، تفاوت معنی‌داری از نظر درصد تولید، وزن تخم‌مرغ و وزن توده تخم‌مرغ مشاهده نشد. باکتری‌های اسیدلاکتیک در سکوم تحت تأثیر نانوسیلور و فرمالین درمقایسه با گروه‌های شاهد و فورمایسین افزایش یافت ($P<0/01$). همه افزودنی‌های مورد آزمایش درمقایسه با شاهد، باکتری‌های گرم منفی ایلئوم را کاهش دادند ($P<0/01$). افزودن فورمایسین به جیره و نانوسیلور در آب موجب افزایش کلسترول زرده شد ($P <0/01$). نتایج نشان داد که افزودن فرمالین و نانوسیلور به خوراک مرغ‌های تخم‌گذار، موجب کاهش بار میکروبی دستگاه گوارش و بهبود تولید می‌شود.

**کلمات کلیدی**: ضدعفونی‌کننده‌ها، کلسترول زرده، فلور میکروبی روده، نانوسیلور

---

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 *)**

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

**مقدمه**

باتوجه به احتمال آلودگی‌های قارچی و باکتریایی خوراک طیور و تأثیر آن بر سلامت و عملکرد این پرندگان، کنترل آلودگی‌دان و میکروارگانیسم های مضر از اهمیت زیادی برخوردار می باشد. خط اول دفاع علیه این مخاطرات تهیه مواد خوراکی با کیفیت بالا و تا حد امکان عاری از میکرواورگانیسم‌های بیماری‌زا می‌باشد. صنعت پرورش دام باید از مواد افزودنی که جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشند استفاده کند. با ممنوع شدن استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های محرک 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 مرفولوژی دیواره روده و بهبود هضم و جذب و درنهایت افزایش عملکرد می‌گردند (۷).

نانو نقره یک ترکیب ضدعفونی‌کننده می باشد 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*[1]، *استافیلوکوکوس اورئوس*[2] و *باسیلوس سوبتیلیس*[3] 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 بی‌هوازی و همچنین موجب افزایش در جمعیت میکروارگانیسم‌هایی که توانایی زندگی در حضور فشار اکسیژن تقلیل یافته را دارند مخصوصاً لاکتوباسیل‌ها می‌گردند (۹ و ۱۹).

فورمایسین ترکیبی تجاری است که از اسید پروپیونیک، فرمالدئید، بنتونایت سدیم و آمونیاک ساخته شده و اغلب میکروارگانیسم‌ها را از بین می‌برد. این فرآورده تأثیر میکروب‌کشی قوی روی گونه‌های *سالمونلا*، *استرپتوکوکوس*، *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).

میکرواورگانیسم‌های دستگاه گوارش نقش مهمی در هضم چربی‌ها در بدن دارند (۱۳). کلسترول پیش‌ساز اصلی نمک‌های صفراوی در بدن می‌باشد. در دستگاه گوارش، نمک‌های صفراوی کونژوگه شده به‌وسیله آنزیم‌های میکروبی مورد حمله قرار می‌گیرند و به متابولیت‌های مختلف تبدیل می‌شوند. حضور میکرواورگانیسم‌های خاصی مانند *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[4] در روده، از جذب دوباره نمک های اولیه صفراوی جلوگیری می‌کنند. از سوی دیگر نشان داده شده که میکرواورگانیسم‌هایی مانند *باسیلوس سوبتیلیس*[5] و *باسیلوس لیکنیفورمیس*[6] قادر به ساخت آنزیم استراز درکنار آنزیم لیپاز هستند که می‌تواند نوع اسیدهای چرب آزاد روده را تغییر داده و درنهایت باعث کاهش جذب و انتقال تری‌گلیسریدها به پلاسما شود. به‌طورکلی، تغییر نمک‌های صفراوی توسط باکتری‌ها (عمدتاً دکونژوگه شدن) سبب کاهش در جذب طبیعی چربی می‌شود و همچنین، نمک‌های صفراوی دکونژوگه در روده جذب نشده و از راه مدفوع 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 ضدعفونی‌کننده خوراک بر میزان کلسترول تخم‌مرغ منتشر نشده است و از طرفی باتوجه به بررسی منابع، تأثیر ژرف فلور میکروبی بر هضم و جذب چربی‌ها در حیوانات محرز می‌باشد. لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر نانوسیلور درمقایسه با سایر ضدعفونی‌کننده‌های

1 - *E. coli*

2 -*Staphylococcus aureus*

3- *Bacillus subtilis*

4 - *Lactobacillus acidophilus*

5 - *Bacillus subtilis*

6-*Bacillus licheniformis*

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 درنظر 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 باتوجه به تعداد تخم‌مرغ های تولیدی و تعداد مرغ‌های مربوط به هر واحد آزمایشی محاسبه شد. از حاصل‌ضرب 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 زرده، کل تخم‌های تولید شده هر واحد آزمایشی در دو روز متوالی جمع‌آوری شد. اندازه‌گیری کلسترول زرده به روش آنزیمی و با استفاده از کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) انجام شد. بدین منظور سه گرم زرده به ۲۷ میلی‌لیتر آب نمک (دو درصد) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت دو ساعت توسط دستگاه شیکر به شدت تکان داده شدند. یک میلی‌لیتر از محلول به‌دست 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، به‌جای 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 زرده 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 آلودگی برداشته شد. سری رقت با استفاده از بافر PBS تهیه و شمارش باکتری‌های منتخب به روش قطره‌ای و محیط های کشت مناسب به شرح زیر انجام شد. باکتری‌های اسید لاکتیک در محیط کشت ام. آر. اس. آگار[1] و باکتری‌های گرم منفی روده‌ای در محیط کشت مک کانکی آگار[2] کشت گردیدند. پرگنه‌های ظاهر شده پس از ۲۴ الی ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای $37^{oC}$ 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.

1 - MRS agar, Merck, Germany

2!-Mac Conkey agar, Merck, Germany

به‌طوری‌که استفاده از فورمایسین بالاترین مقدار توده تخم‌مرغ را موجب شد (۵۹/۵۴ گرم در روز) که با گروه دریافت‌کننده نانوسیلور در آب آشامیدنی (۵۶/۷۲ گرم در روز) اختلاف معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۵). بین دو روش استفاده از نانوسیلور، تفاوت معنی‌داری از نظر درصد تولید، وزن تخم‌مرغ و وزن توده تخم‌مرغ مشاهده نشد.

افزودن نانوسیلور و فرمالین به جیره درمقایسه با تیمار شاهد موجب کاهش معنی‌دار مصرف خوراک شد (P < ۰/۰۱) و میزان مصرف خوراک گروه‌های دریافت‌کننده فرمالین و نانوسیلور (در آب و خوراک) با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار داشت (P < ۰/۰۱). بین دو شیوه کاربرد نانوسیلور در آب آشامیدنی و خوراک تفاوتی از نظر مصرف خوراک مشاهده نشد. کمترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به گروه‌های دریافت‌کننده نانوسیلور در خوراک و فورمایسین بود که با سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌دار داشت (P < ۰/۰۱).

**جدول ۱ - میانگین درصد تولید، وزن تخم مرغ، وزن توده تخم‌مرغ، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در تیمارهای مختلف**

| تیمار | تولید تخم‌مرغ (درصد) | وزن تخم‌مرغ (گرم) | وزن توده تخم‌مرغ (گرم/روز) | خوراک مصرفی (گرم/روز) | ضریب تبدیل غذایی |
|---|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۹۶/۹۱±۰/۲۱ | ۵۹/۳۷±۱/۰۴ | ۵۷/۵۴±۰/۴۴$^{ab}$ | ۱۱۶/۳۷±۰/۸۴$^{a}$ | ۲/۰۲±۰/۰۸$^{a}$ |
| فرمالین | ۹۷/۲۴±۰/۰۱ | ۵۸/۹۹±۱/۰۴ | ۵۷/۳۵±۰/۴۴$^{ab}$ | ۱۱۳/۱۰±۰/۸۴$^{b}$ | ۱/۹۷±۰/۰۱$^{ab}$ |
| فورمایسین | ۹۶/۷۴±۰/۰۱ | ۶۱/۵۲±۱/۸۲ | ۵۹/۵۴±۲/۰۰$^{a}$ | ۱۱۵/۱۰±۱/۷۰$^{ab}$ | ۱/۹۳±۰/۰۴$^{c}$ |
| نانوسیلور در آب | ۹۷/۱۳±۰/۰۰ | ۵۸/۴۰±۰/۷۰ | ۵۶/۷۲±۰/۷۷$^{b}$ | ۱۱۱/۱۷±۰/۷۱$^{b}$ | ۱/۹۷±۰/۰۲$^{ab}$ |
| نانوسیلو در خوراک | ۹۷/۰۹±۰/۰۱ | ۵۹/۳۴±۰/۵۵ | ۵۷/۶۱±۰/۳۱$^{ab}$ | ۱۱۰/۹۹±۰/۳۶$^{b}$ | ۱/۹۲±۰/۰۱$^{c}$ |
| معنی‌داری | ns | ns | * | ** | ** |

$^{a-c}$ - تفاوت میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون معنی‌دار است (P < ۰/۰۱ :$^{**}$ ، P < ۰/۰۵ :$^{*}$ ، P >۰/۰۵ :$^{ns}$).

همه ضدعفونی‌کننده‌ها درمقایسه با شاهد موجب کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در ایلئوم گردیدند (P < ۰/۰۱) (جدول ۲). کمترین تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک ایلئوم در گروه دریافت‌کننده فورمایسین مشاهده شد که با افزودنی‌های دیگر تفاوت معنی‌داری داشت (P < ۰/۰۱). تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک سکوم در کلیه افزودنی‌های مورد استفاده افزایش یافت (P <۰/۰۱)، البته این افزایش در گروه دریافت‌کننده فورمایسن معنی‌دار نبود. همه افزودنی‌های مورد آزمایش درمقایسه با شاهد تعداد باکتری‌های گرم منفی محتویات ایلئوم را کاهش دادند (P <۰/۰۱). 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 آشامیدنی بود. در مقایسه دو روش استفاده از نانوسیلور تفاوت معنی‌داری در فراوانی باکتری‌های اسیدلاکتیک و گرم منفی روده‌ای در محتویات ایلئوم و سکوم مشاهده نشد.

گرچه تمامی افزودنی‌های مورد استفاده درمقایسه با شاهد موجب افزایش در محتوی کلسترول زرده شدند، اما این افزایش تنها در گروه‌های فورمایسین و نانوسیلور در آب معنی‌دار بود (P <۰/۰۱). کمترین میزان کلسترول در زرده تخم‌مرغ‌های 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.

**جدول ۲ - جمعیت باکتریایی در سکوم و ایلئوم و مقدارکلسترول زرده تخم‌مرغ**

| تیمار | بار میکروبی دستگاه گوارش (log CFU/g) | | | | کلسترول زرده (mg/g) |
|---|---|---|---|---|---|
| | باکتری‌های اسید لاکتیک | | گرم منفی‌های روده‌ای | | |
| | ایلئوم | سکوم | ایلئوم | سکوم | |
| شاهد | ۶/۹۶±۰/۰۴$^{a}$ | ۴/۶۶±۰/۵۲$^{c}$ | ۶/۹۶±۰/۹۰$^{a}$ | ۵/۶۹±۰/۷۲ | ۱۱/۰۸±۰/۵۹$^{c}$ |
| فرمالین | ۵/۹۰±۰/۶۶$^{b}$ | ۶/۲۹±۱/۵۹$^{a}$ | ۵/۶۰±۳/۳۵$^{b}$ | ۶/۲۷±۱/۳۸ | ۱۲/۷۵±۱/۰۶$^{bc}$ |
| فورمایسین | ۴/۵۳±۲/۵۲$^{c}$ | ۵/۳۹±۱/۳۰$^{bc}$ | ۴/۳۷±۲/۳۱$^{c}$ | ۶/۱۰±۰/۶۸ | ۱۴/۶۶±۰/۳۶$^{a}$ |
| نانوسیلور در آب | ۵/۷۵±۰/۶۸$^{b}$ | ۵/۵۱±۰/۴۷$^{ab}$ | ۵/۱۶±۰/۶۷$^{cb}$ | ۵/۴۵±۰/۴۳ | ۱۳/۷۲±۰/۷۶$^{ab}$ |
| نانوسیلور در خوراک | ۵/۷۸±۰/۴۴$^{b}$ | ۶/۳۵±۰/۴۳$^{a}$ | ۵/۶۳±۰/۲۳$^{b}$ | ۵/۷۵±۰/۴۸ | ۱۲/۷۹±۰/۵۰$^{bc}$ |
| معنی‌داری | ** | ** | ** | ns | ** |

$^{a-c}$ - تفاوت میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون معنی‌دار است ($P < ۰/۰۱$ :$^{**}$، $P < ۰/۰۵$ :$^{*}$ ، $P >۰/۰۵$ :ns).

## بحث

در مطالعات مختلف عدم تأثیر افزودن اسیدهای آلی بر وزن تخم‌مرغ تولیدی مشاهده شده است (۲۳). همچنین در این آزمایش، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف از نظر وزن تخم‌مرغ وجود نداشت، اما گروه مصرف‌کننده فورمایسین دارای بیشترین وزن تخم‌مرغ بود. در این آزمایش، تأثیر افزودنی‌های مورد بررسی بر وزن توده تخم‌مرغ که خود تابع درصد تولید و وزن تخم‌مرغ است، معنی‌دار شده است. وزن تخم‌مرغ درمقایسه با درصد تولید، تأثیر افزودنی‌ها را بیشتر نشان داد (جدول ۱). به عبارت دیگر، وزن تخم‌مرغ در مقایسه با درصد تولید شاخص حساس‌تری است. مرغ تخم‌گذار قادر است انرژی و مواد مغذی را بین دو هدف تولید تخم‌مرغ (حفظ درصد تولید) و افزایش وزن تخم‌مرغ، 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 تخم‌مرغ‌های تولیدی خواهیم بود (۶). افزایش وزن توده تخم‌مرغ در گروه دریافت‌کننده 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 تخم‌مرغ می‌تواند به‌دلیل 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 مایکوتوکسین‌ها نیز اثبات شده است (۱۴). به نظر می‌رسد حداقل بخشی از اثرات

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

کاهش ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های دریافت‌کننده افزودنی‌ها درمقایسه با گروه شاهد می‌تواند به علت تأثیر توأم این ترکیبات بر خوراک مصرفی و وزن توده تخم‌مرغ باشد. گزارش شده است که فورمایسین سبب، بهبود ضریب تبدیل خوراک پرندگان و کاهش شیوع بیماری‌های روده‌ای، ضدعفونی مؤثر دستگاه گوارش، بهبود سلامتی پرندگان، 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 تخم‌گذار باعث افزایش وزن زنده، تولید روزانه تخم‌مرغ، ضریب تبدیل و بازده اقتصادی شد (۳ و ۲۲). مشابه نتایج حاضر، در آزمایش‌های انجام شده بر روی حیوانات، افزودن نانوسیلور به خوراک سبب کاهش مقدار خوراک مصرفی و بهبود در ضریب 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*، *استرپتوکوکوس*، *کامپیلوباکتر* و *کلستریدیا* در مواد خام خوراک حیوانات دارد (۲). این تأثیرات می‌تواند به علت وجود فرمالین و اسید پروپیونیک در ساختار فورمایسین باشد. به‌طور مشابه در تعدادی از گزارش‌ها با افزودن اسیدهای پروپیونیک، فورمیک و لاکتیک در جیره، تعداد باکتری‌های *کلی فرم* و *سالمونلا* در طیور به طور مؤثری کاهش یافت (۵). فرمالین یک ضدعفونی‌کننده بسیار قوی می‌باشد که اکثر باکتری‌ها را می‌کشد. تعداد کمتر باکتری‌های اسید لاکتیک در تیمار فورمایسین درمقایسه با فرمالین نیز ممکن است به دلیل جذب و خنثی شدن فرمالین موجود در خوراک قبل از رسیدن به ایلئوم باشد. درحالی‌که 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 (۱ و ۱۰).

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 به‌جز سکوم شدند. در آزمایشی تأثیر هیدروکلوئید 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

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 ایلئوم جذب شده باشد. اما در بررسی میزان نقره بافت‌ها، این دلیل چندان قانع‌کننده نمی‌باشد (۸). مشابه با نتایج این آزمایش، در آزمایشی دیگر نانوسیلور سبب کاهش معنی‌داری در تعداد کل باکتری‌ها، باکتری‌های گروه کلستریدیاها و همچنین کاهش جزئی در تعداد لاکتوباسیل‌ها شد (۸). همچنین استفاده از نانونقره در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم سبب افزایش در تعداد لاکتوباسیل‌های سکوم گردید (۱۹). در مطالعه حاضر نیز هیچ تغییری در تعداد باکتری‌های مختلف در سکوم مشاهده نشد، به استثنای باکتری‌های اسید لاکتیک که افزودنی‌های 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 لاکتوباسیل‌ها شده است. در بین دو نوع استفاده از نانوسیلور گروه مصرف‌کننده نانوسیلور در خوراک تأثیر بیشتری را نسبت به گروه نانوسیلور در آب داشت، که این ممکن است به دلیل واکنش نانوسیلور در آب با املاح و مواد مختلف موجود در آب آشامیدنی مانند کلر و گوگرد باشد، که باعث کاهش در میزان فعالیت ضدمیکروبی نانوذرات محلول در آب شده است.

در این آزمایش مشاهده شد گروه‌هایی که کمترین تعداد باکتری های 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 باکتری های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و یا دو گونهٔ *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس لیکنیفورمیس* باعث کاهش میزان کلسترول تخم‌مرغ شده است (۱۳). کاهش در میزان کلسترول توسط این سویه ها می تواند 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 صفراوی در روده توسط این باکتری ها نیز به اثبات رسیده است که به نوبه خود موجب استفاده بیشتر از کلسترول بدن حیوان جهت ساخت نمک‌های صفراوی می‌گردد.

از سوی دیگر، جایگاه اصلی کنترل متابولیکی بیوسنتز کلسترول در تشکیل موالونیک اسید از طریق آنزیم هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم آ[1] 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 کوآنزیم آ ردوکتاز ممانعت کنند (۱۲). افزایش در میزان کلسترول زرده در گروه‌های تغذیه شده با افزودنی‌های ضدعفونی‌کننده می‌تواند به‌دلیل افزایش جذب مواد مغذی به‌ویژه چربی‌ها باشد. ترکیبات ضدعفونی‌کننده 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 ضدعفونی‌کننده‌ها بیشتر بر روی باکتری‌های گرم مثبت مانند *لاکتوباسیلوس‌ها*، استرپتوکوکوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها می‌باشد و در باکتری‌های یاد شده فعالیت آنزیم هیدرولاز نمک‌های صفراوی 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 تخم‌مرغ، مرغ‌های تغذیه شده با ترکیبات ضدعفونی‌کننده دان باشد. باتوجه به اینکه در تحقیقات اخیر ذخیره نانو ذرات نقره در بافت‌های خوراکی جوجه‌های گوشتی (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).

1 - Hydroxy methyl glutaryl-CoA reductase

به‌طورکلی، در این آزمایش مشاهده شد که استفاده از کلوئید نانوسیلور ساخت داخل در هر دو نوع روش استفاده شده و فورمایسین علاوه بر کاهش باکتری‌های گرم منفی دستگاه گواش هیچ تأثیر منفی در عملکرد مرغ های تخم‌گذار نداشت. این کاهش بار میکروبی با افزایش عملکرد (وزن توده تخم مرغ تولیدی) در پرندگان این گروه‌ها همراه بود. در دو روش استفاده از نانوسیلور نیز تفاوت‌هایی مشاهده شد به‌طوری‌که نانوسیلور در خوراک عملکرد بهتری نسبت به نانوسیلور در آب داشت. استفاده از فرمالین در سطح ۰/۲ درصد در جیره مرغ‌های تخم‌گذار علاوه بر کنترل مطلوب بار میکروبی دستگاه گوارش و عدم تأثیر سوء بر عملکرد، کمترین مقدار کلسترول تخم‌مرغ را نسبت به دیگر ضدعفونی‌کننده‌های استفاده شده در این آزمایش داشت.

## 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 micrbiologic 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 biochemico-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 [1], M. A. Karimi Torshizi [*2] and S. Rahimi [3]

**(E-mail: karimitm@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, Formaycin-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 - Assistnant 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