تولیدات دامی
دوره ۲۳ ■ شماره ٤ ■ زمستان ١٤٠٠
صفحه‌های ۵۷۱-۵۶۱
DOI: 10.22059/jap.2021.308293.623554

مقاله پژوهشی

مطالعه تأثیر منابع آلی، معدنی و نانو مس بر عملکرد، فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون، جمعیت میکروبی روده کوچک و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی

شکوفه غضنفری[1*]، محمد احمدپناه[2]، سید داود شریفی[1]
۱. دانشیار، گروه علوم دام و طیور، دانشکدگان ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دام و طیور، دانشکدگان ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۰۷/۰۹

چکیده
تأثیر منابع مختلف مس بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون، جمعیت میکروبی روده کوچک و کیفیت گوشت با استفاده از ۲٤۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار از سن یک تا ٤۲ روزگی بررسی شد. تیمارها شامل تیمار شاهد (جیره بدون مس) و چهار جیره حاوی ١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منابع گلایسین مس، سولفات مس، نانوکلات مس و نانوگلایسین مس بودند. نتایج نشان داد استفاده از منابع مختلف مس تأثیری بر عملکرد رشد، برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و درصد هتروفیل، لنفوسیت، گلبول سفید، تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل، کلسترول، تری گلیسرید، ظرفیت نگهداری آب و pH گوشت جوجه‌های گوشتی نداشت. وزن نسبی دستگاه گوارش در پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی گلایسین مس از پرندگان دریافت‌کننده نانوکلات مس کم‌تر بود (P<۰/۰۵). کل جمعیت میکروبی ایلئوم پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های بدون مس و سولفات مس بیش‌تر از پرندگان دریافت‌کننده جیره حاوی گلایسین مس بود (P<۰/۰۱). میزان مالون‌دی‌آلدهید گوشت پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی گلایسین مس و نانوگلایسین مس شش روز بعد از نگهداری در یخچال، کم‌تر از سایر پرندگان بود(P<۰/۰۱). براساس نتایج حاصل، استفاده از سطح ١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منابع آلی و معدنی و نانو در جیره، تأثیری بر صفات عملکرد رشد، ایمنی و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی ندارد، اما استفاده از مکمل‌های گلایسین مس و نانوگلایسین مس در جیره میزان اکسیداسیون گوشت را کاهش می‌دهد.

کلیدواژه‌ها: جمعیت میکروبی، جوجه گوشتی، کیفیت گوشت، منابع مس، نانوذرات.

The study on the effect of organic, mineral, and nano-copper sources on performance, blood biochemical and immune parameters, small intestinal microbial population and meat quality of broiler chicken

Shokoufe Ghazanfari[1*], Mohammad Ahmadpanah[2], Seyed Davood Sharifi[1]
1. Associate Professor, Department of Animal and Poultry Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran.
2. Former M.Sc. Student, Department of Animal and Poultry Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran.
Received: September 16, 2020 Accepted: October 01, 2021

Abstract
The effects of different sources of copper supplementation on growth performance, some blood biochemical and immune parameters, microbial population of small intestine and meat quality were investigated with using of 240 male broiler chicks in a completely randomized design with 5 treatments and 4 replicates from 1 to 42 days. Treatments consisted of control treatment (basal diet without copper supplement) and four diets containing 16 mg/kg of copper-glycine, copper-sulfate, copper-nanochelate and copper nano-glycinec. The results showed that the use of different sources of copper had no effect on growth performance, some blood biochemical parameters and percentage of heterophil, lymphocyte, white blood cell, antibody titer against Newcastle disease, cholesterol, triglycerides and water holding capacity and pH of meat of broilers. Gastrointestinal relative weight in birds fed with diet containing copper-glycine was lower than the birds receiving copper-nanochelate (P<0.05). The total microbial population of ileum in birds fed diets without copper and copper-sulfate was higher than birds receiving diet containing copper-glycine (P<0.01). Meat malondialdehyde concentration of birds fed with diets containing copper-glycine and copper nano-glycine after 6 day of storage at refrigerator was lower than other birds (P<0.01). According to the results, the use of 16 mg/kg of copper from organic, mineral and nano sources in the diet has no effect on growth performance, immune system and ileal microbiota in broilers, but the use of copper-glycine and copper nano-glycine supplements in the diet reduces the oxidation of meat.

Keywords: Broiler chicken, Copper sources, Meat quality, Microbial population, Nano particles.

* نویسنده مسئول Email: shghazanfari@ut.ac.ir

مقدمه

مس عنصری کمیاب است که در بسیاری از فرایندهای متابولیکی در جانوران از جمله طیور نقش دارد. لذا از عناصر معدنی ضروری برای پرندگان است [۱۲]. در مرغ، مس اغلب به شکل نمک سولفات مس، در سطوح بالاتر از نیاز تغذیه می‌شود. مس به آسانی ابقا و در کبد ذخیره می‌شود. مس می‌تواند به عناصر دیگر به‌ویژه روی و آهن متصل شده و آن‌ها را از دسترس خارج نماید [۹].

احتیاجات جوجه‌های گوشتی راس ۳۰۸ به مس، ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک گزارش شده است [۵] و مصرف بیش از حد مکمل معدنی مس، به‌دلیل زیست‌فراهمی و استفاده پایین در بدن، می‌تواند سبب آلودگی زیست‌محیطی شود. بنابراین، می‌توان دفع مس به محیط را با استفاده از منابع مس با زیست‌فراهمی بالاتر کاهش داد. در طیور، مس به مقدار زیادی در بخش آغازین روده باریک که pH شیرابه گوارشی هم‌چنان اسیدی است، جذب می‌شود. با این‌حال، جذب مس بسیار اندک است و در شرایط طبیعی بیش از ۹۰ درصد از مس خورده‌شده از راه مدفوع دفع می‌شود [۲۰]. بنابراین، افزودن مقدار زیاد مس به جیره، سبب افزایش دفع مس از مدفوع و به‌دنبال آن، آلودگی زیست‌محیطی می‌شود. اگر اندازه مولکول‌های مس به اندازه ذره‌های نانو کاهش یابد، مولکول‌ها به آسانی می‌توانند از مخاط روده جذب شوند و دفع آن‌ها از راه مدفوع کاهش می‌یابد. اندازه کوچک، نسبت سطح به جرم بالا و واکنش‌پذیری زیاد از ویژگی‌های مهم ذره‌های نانو است که کاربردهای جدیدی برای آن‌ها ایجاد می‌کند [۱۹، ٦]. کاهش اندازه در مقایسه با ذره‌های بزرگ‌تر، سطح واکنش نانوذرات را به ازای واحد حجم افزایش می‌دهد و به مقدار زیادی تأثیر سدها را برای نفوذ ذرات به بدن و حرکت در بدن کاهش می‌دهد [٦،١٤]. بنابراین می‌توان جذب مس را با استفاده از فناوری نانو افزایش داد.

فناوری نانو کیلات‌ها یک رشته جدید است که توانایی طراحی و تولید ساختارهای نانو را به‌روش خودچینی فراهم می‌کند. گزارش‌ها در مورد استفاده از میزان کم منابع مختلف نانو مس در جیره جوجه‌های گوشتی اندک است. هدف از این پژوهش مطالعه تأثیر تأمین ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره مس از منابع مختلف گلایسین مس، سولفات مس، نانوکلات مس و نانوگلایسین مس بر عملکرد، خصوصیات لاشه، برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون، جمعیت میکروبی روده کوچک و کیفیت گوشت جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ٢٤٠ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار توزیع شدند. شرایط محیطی برای همه گروه‌های آزمایشی یکسان بود. تمامی برنامه‌های مدیریت پرورش جوجه‌ها، شامل دما، نور، واکسیناسیون، تراکم و بستر به‌طور یکسان و مطابق با شرایط استاندارد توصیه‌شده در راهنمای پرورش راس ۳۰۸ انجام شد [۵]. تیمارها شامل ١٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم جیره مس از منابع مختلف گلایسین مس، سولفات مس، نانوکلات مس و نانوگلایسین مس و هم‌چنین شاهد (جیره بدون مس) بودند. جیره‌های آزمایشی براساس ذرت-کنجاله سویا برای دوره‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA و برای تأمین احتیاجات مواد مغذی توصیه‌شده سویه تجاری (به‌استثنای مس) برای سه دوره آغازین، رشد و پایانی تنظیم شدند (جدول ۱). در تنظیم کلیه جیره‌های آزمایشی، از مکمل مواد معدنی فاقد مس استفاده شد و نیاز مس در جیره‌ها (مقدار ١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) با استفاده از منابع مورد مطالعه تأمین شد.

جدول ۱. ترکیب جیره پایه استفاده‌شده در دوره‌های مختلف پرورش جوجه‌های گوشتی

(درصد)	دوره آغازین (یک-۱۰ روزگی)	دوره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)	دوره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)
ذرت	۵۸/۸۰	۵۹/۹۵	۶۵/۳۳
کنجاله سویا (۴۲ درصد پروتئین خام)	۳۵/۶۰	۳۳/۶۲	۲۸/۳۱
روغن سویا	۱/۴۳	۲/۹۶	۲/۸۱
دی‌کلسیم فسفات	۱/۷۴	۱/۵۰	۱/۵۶
کربنات کلسیم	۱/۳۴	۱/۱۱	۱/۱۵
نمک	۰/۲۰	۰/۲۰	۰/۲۰
مکمل ویتامینی[1]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل معدنی[2]	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
ال-لیزین هیدروکلراید	۰/۱۵	–	–
دی‌ال-متیونین	۰/۲۴	۰/۱۶	۰/۱۴
مواد مغذی محاسبه‌شده			
انرژی قابل سوخت‌وساز (کیلوکالری بر کیلوگرم)	۲۹۰۴	۳۰۲۴	۳۰۷۲
پروتئین خام (درصد)	۲۱/۱۲	۲۰/۱۶	۱۸/۲۸
کلسیم (درصد)	۱/۰۱	۰/۸۶	۰/۸۷
فسفر قابل استفاده (درصد)	۰/۴۸	۰/۴۳	۰/۴۳
لیزین (درصد)	۱/۲۱	۱/۰۶	۰/۹۳
متیونین (درصد)	۰/۵۶	۰/۴۷	۰/۴۲
متیونین + سیستئین (درصد)	۰/۹۰	۰/۸۰	۰/۷۳
ترئونین (درصد)	۰/۷۸	۰/۷۵	۰/۶۷
سدیم (درصد)	۰/۱۱	۰/۱۱	۰/۱۵
مس (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۶	۱۶	۱۶

۱. ترکیب مکمل ویتامینی استفاده‌شده به‌ازای هر کیلوگرم شامل ۳۵۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۰۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_3، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۹۰۰ میلی‌گرم ویتامین تیامین، ۳۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین ریبوفلاوین، ۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین اسید پانتوتنیک، ۱۵۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین نیاسین، ۱۵۰ میلی‌گرم ویتامین پیریدوکسین، ۵۰۰ میلی‌گرم ویتامین B_9، ۷/۵ میلی‌گرم ویتامین B_{12}، ۱۰۰۰ میلی‌گرم منادیون، ۲۵۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین، ۵۰۰ میلی‌گرم بیوتین می‌باشد.

۲. ترکیب مکمل معدنی استفاده‌شده به‌ازای هر کیلوگرم شامل ۴۰ گرم منگنز، ۲۰ گرم آهن، ۱ میلی گرم سلنیوم، ۴۰۰ میلی‌گرم ید، ۳۳۸۸۰ میلی‌گرم روی، صفر میلی‌گرم مس بود.

مکمل مواد معدنی بدون مس مورداستفاده از کارخانه خوراک جوانه خراسان واقع در مشهد تهیه شد. کمپلکس‌های نانو مس مورد استفاده (با اندازه ۲۵-۲۰ نانومتر) توسط شرکت صدور احرار شرق براساس روش خودچینی تأمین شد. محتوای مس مکمل‌های مورد استفاده در جدول (۲) آورده شده است.

جدول ۲. غلظت مس (درصد) در مکمل‌های مس

مکمل های مس	مقادیر مس (درصد)
گلایسین مس	۲۱/۶
نانو گلایسین مس	۱۰
نانو کلات مس	۷
سولفات مس	۱۹/۳

مصرف خوراک و وزن زنده جوجه‌ها به‌صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و افزایش وزن و خوراک مصرفی روزانه (گرم به‌ازای هر جوجه)، و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. در پایان دوره آزمایشی (٤٢ روزگی)، از هر تکرار یک قطعه جوجه با وزن نزدیک به میانگین انتخاب، توزین و کشتار شدند. پس از کشتار و پرکنی، محتویات شکم به دقت خارج شد. سپس وزن لاشه، کل دستگاه گوارش، کبد، قلب، چربی شکمی، بورس‌فابرسیوس، طحال، سینه و ران اندازه‌گیری شد و وزن نسبی آن‌ها به‌صورت درصدی از وزن زنده محاسبه شد. سپس یک گرم محتویات ایلئوم برداشته و به پنج سی‌سی محلول سرم فیزیولوژی حاوی گلیسرین ۳۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش‌های میکروبی (آزمایشگاه میکروبیولوژی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران) در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

جهت بررسی غلظت تیتر آنتی‌بادی، واکسن نیوکاسل به‌صورت آشامیدنی در ١٦ روزگی استفاده شد. ۱۲ روز بعد از مصرف واکسن، نمونه‌های خون از سیاهرگ بال دو پرنده از هر تکرار جمع‌آوری شد. سرم نمونه‌های خون با ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه جدا شد و تا انجام آزمایش تعیین میزان آنتی‌بادی، به‌صورت منجمد در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در نهایت جهت اندازه‌گیری تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس نیوکاسل توسط تست مهار هماگلوتیناسیون، به آزمایشگاه انتقال داده شد. تیترهای آنتی‌بادی به‌دست‌آمده به‌صورت Log2 بیان شدند [۲۱].

برای بررسی برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون، در سن ٤٢ روزگی، دو پرنده از هر تکرار انتخاب و نمونه‌های خون جهت ارزیابی آزمایش‌های خون‌شناسی جمع‌آوری شد. شمارش گلبول‌های سفید خون به‌وسیله هماتوسایتومتری با استفاده از محلول Natt-Herrick انجام شد. اسلایدهای هتروفیل و لنفوسیت با روش گیمسا مهیا و رنگ‌آمیزی شد [۲۱]. غلظت‌های تری‌گلیسرید، کلسترول و لیپوپروتئین‌هایی با چگالی بالا سرم خون با استفاده از کیت تجاری (شرکت پارس آزمون، تهران) اندازه‌گیری شدند.

برای انجام آزمایش‌های میکروبی از روش شمارش واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در محلول استریل بافر فسفات استفاده شد. برای شمارش لاکتوباسیل‌ها از محیط کشت MRS (مرک، آلمان) به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و برای شمارش کل جمعیت میکروبی ایلئوم از محیط کشت نوترینت آگار (مرک، آلمان) به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. پس از طی زمان انکوباسیون تعداد کلنی‌های رشد کرده روی پلیت‌ها که بین ۳۰ تا ۳۰۰ بودند، شمارش شدند. سپس تعداد باکتری‌های هر گرم نمونه ایلئوم، با استفاده از تعداد کلنی شمارش‌شده، رقت و مقدار تلقیح به محیط کشت، محاسبه شدند [۱۰].

به‌منظور بررسی کیفیت گوشت در سن ٤٢ روزگی، یک پرنده نر از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب و پس از کشتار نمونه‌های گوشت ران و سینه جمع‌آوری و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. ظرفیت نگهداری آب با استفاده از نمونه‌های گوشت تازه ران و سینه اندازه‌گیری شد [۷]. تغییرات pH گوشت‌های ران و سینه در دو زمان، بلافاصله بعد از کشتار و دو ساعت بعد از کشتار با pH متر پرتابل (Metrohm827، سوئیس) اندازه‌گیری شد. برای بررسی پایداری اکسیداتیو گوشت، نمونه‌های گوشت ران و سینه به‌مدت سه و شش روز در یخچال نگهداری شدند. سپس میزان مالون‌دی‌آلدهید در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدهید با استفاده از واکنش تیوباربیتوریک اسید انجام گرفت [۸]. این روش براساس مقدار جذب

نوری کمپلکس صورتی‌رنگ حاصل از واکنش یک مولکول مالون‌دی‌آلدهید با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید استوار است. میزان جذب نوری نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda25، آلمان) در طول موج ۵۲۱/۵ نانومتر قرائت شد. سپس مقدار مالون‌دی‌آلدهید در هر نمونه (میکروگرم بر گرم) با توجه به منحنی استاندارد محاسبه شد.

داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) رویه مدل خطی عمومی، برای مدل آماری رابطه (۱) تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای توکی در سطح پنج درصد مقایسه شدند [۱۸].

$$X_{ij} = \mu + \delta_j + e_{ij} \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در این رابطه، X_{ijk}، مقدار مشاهده شده؛ μ، میانگین جمعیت؛ δ_j، اثر هر تیمار و e_{ij}، خطای آزمایشی است.

نتایج و بحث

اثر منابع مختلف مس بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف پرورشی معنی‌دار نبود (جدول ۳). به‌نظر می‌رسد که مقدار مس تأمین شده از سایر منابع خوراکی مورداستفاده نیاز جوجه‌های گوشتی را تأمین نموده است و لذا افزودن مس به جیره تأثیری بر عملکرد رشد نداشته است.

در پژوهشی استفاده از مکمل سولفات مس در جیره جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ روزگی میانگین وزن جوجه‌ها را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد، که بیش‌ترین مقدار افزایش وزن مربوط به تیمار ۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع سولفات مس بود. اما سطح ۷۵ میلی‌گرم در کیلوگرم تفاوتی با تیمار شاهد (بدون مکمل مس) نداشت [۱۷]، که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. هم‌چنین، استفاده از سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی‌گرم مس از منبع سولفات مس در جیره تأثیری بر میانگین خوراک مصرفی و افزایش وزن در کل دوره نداشت، ولی ضریب تبدیل غذایی در اثر مصرف ۱۲۵ میلی‌گرم در کیلوگرم در انتهای دوره از سایر تیمارها پایین‌تر بود [۱۲]. گزارش‌ها نشان دادند افزودن مس به جیره سبب بهبود برخی صفات عملکردی می‌شود. مس جزئی از چندین آنزیم مهم بدن است و به‌عنوان یک کوفاکتور برای بسیاری از آنزیم‌ها عمل می‌کند.

جدول ۳. اثر منابع مختلف مس[1] بر افزایش وزن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل خوراک جوجه‌های گوشتی (گرم به‌ازای هر جوجه در دوره)

دوره‌های پرورش	دوره آغازین (۱۰-۱ روزگی)			دوره رشد (۲۴-۱۱ روزگی)			دوره پایانی (۴۲-۲۵ روزگی)			کل دوره (۴۲-۱ روزگی)		
تیمار/ صفات	مصرف خوراک	افزایش وزن	ضریب تبدیل	مصرف خوراک	افزایش وزن	ضریب تبدیل	مصرف خوراک	افزایش وزن	ضریب تبدیل	مصرف خوراک	افزایش وزن	ضریب تبدیل
شاهد (بدون مکمل مس)	۲۷۳/٤	۱٦۲/۱	۱/٦۹	۱۲٤۱	۷۰٦/۳	۱/۷٦	۲٦٤٤	۱٤٤٤	۱/۸۳	۳۸٦٦	۲۱۵۹	۱/۷۹
گلایسین مس	۲۷٤/٦	۱٦٦/۹	۱/٦۵	۱۲٤۹	٦۹۰/۲	۱/۸۲	۲۵۵۸	۱٤۳۰	۱/۷۹	۳۸۰۷	۲۱۳۵	۱/۷۸
سولفات مس	۲۷۷/۹	۱۷۱/۰	۱/٦۳	۱۲۵٤	۷۱۹/۷	۱/۷٤	۲٦٦۰	۱٤۲۹	۱/۸٦	۳۸۹۹	۲۱۷۲	۱/۸۰
نانوکلات مس	۲۸۸/٤	۱۷۷/۵	۱/٦۳	۱۲٦۸	۷۰۸/۸	۱/۷۹	۲۷۳٦	۱٤۸۵	۱/۸٤	۳۹٦۳	۲۱۹۹	۱/۸۰
نانوگلایسین مس	۲۷۵/۳	۱۷۲/۳	۱/٦۰	۱۲۳۵	٦۳۹/۲	۱/۹٦	۲٦۰۳	۱٤۵۰	۱/۸۰	۳۸۲۸	۲۰۹۸	۱/۸۳
میانگین خطای استاندارد	۳/۷۵	٤/٤٤	۰/۰٤	۱۷/۳	۲۸/۹۸	۰/۰۸	٤۵/۱	۳٤/۳	۰/۰۳	٤٦/۸	٤۸/۱	۰/۰۳
P Value	۰/۰۷	۰/۲۰	۰/٦۰	۰/٦۹	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۱۲	۰/۷۸	۰/۵۱	۰/۱۹	۰/٦۵	۰/۸٦

۱. مقدار مس تأمین شده از منابع مورد مطالعه برابر ۱٦ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره می‌باشد.

این احتمال وجود دارد که افزودن مکمل مس به جیره، رشد جوجه‌های گوشتی را از طریق تحریک فعالیت آنزیم‌های درگیر در بازدهی غذایی، افزایش می‌دهد [۲]. مکمل نانواکسیدمس در سطوح صفر و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیز تأثیری بر وزن نهایی جوجه‌های گوشتی نداشت [۱۹]. هم‌چنین مکمل‌کردن نانوذرات کیتوزان مس میانگین افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک را افزایش داد و سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی در جوجه‌های گوشتی شد، اما در این صفات تفاوتی با آنتی‌بیوتیک کلروتتراسایکلین نداشت [۲۲]. با توجه به نتایج این پژوهش و نتایج حاصل از پژوهش‌های دیگر پژوهش‌گران می‌توان تغییر در شرایط مدیریتی و محیطی پرورش، سویه و نژاد مورد بررسی و یا دوز مصرفی مکمل را عامل اصلی تفاوت در نتایج به‌دست‌آمده در نظر گرفت [۱۹].

منابع مختلف مس تأثیری بر درصد وزن لاشه، گوشت سینه، ران، طحال، قلب، بورس فابریسیوس و چربی حفره بطنی در جوجه‌های گوشتی نداشتند (جدول ٤). پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی نانوکلات مس وزن نسبی دستگاه گوارش بیش‌تری نسبت به پرندگان دریافت‌کننده جیره حاوی گلایسین مس داشتند ($P < ۰/۰۵$).

همسو با نتایج پژوهش حاضر، در پژوهشی دیگر، منابع مختلف مس بر وزن نسبی اکثر اندام‌های داخلی تأثیری نداشتند [۱۷]. از میان سطوح ۳۵، ۷۰ و ۱۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم مس در جیره جوجه‌های گوشتی، سطح ۷۰ میلی‌گرم باعث بهبود وزن نسبی کبد شد اما سطوح ۳۵ و ۱۰۵ میلی‌گرم اثری بر وزن کبد نداشتند [٤]. دلیل افزایش نسبی وزن کبد در مطالعات به خوبی روشن نشده است، اما ممکن است به‌علت افزایش سوخت‌وساز در کبد باشد. وزن طحال به‌عنوان یک اندام دخیل در ایمنی مورد اندازه‌گیری واقع شد. مطابق با آزمایش حاضر تفاوتی از لحاظ وزن نسبی طحال در بین پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی منابع مختلف مس وجود نداشت [۳]. با استفاده از سطوح ۷/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره (سطح استاندارد) از منبع سولفات مس و ۱/۸۷۵، ۳/۷۵، ۵/٦۲۵ و ۷/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم نانومس در جیره جوجه‌های گوشتی تأثیری در بازده لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی بدن مشاهده نشد [۱۹]. مکمل‌های سولفات مس و نانومس سبب کاهش وزن نسبی معده و قلب جوجه‌های گوشتی شدند. کاهش در وزن نسبی دستگاه گوارش می‌تواند نتیجه نازک شدن دیواره روده و در نتیجه کاهش وزن آن باشد.

جدول ٤. اثر منابع مختلف مس[1] بر بازده لاشه و وزن نسبی اندام‌های داخلی، سینه و ران (درصدی از وزن زنده) در جوجه‌های گوشتی

تیمار/ صفات	بازده لاشه	سینه	ران	دستگاه گوارش	کبد	طحال	قلب	چربی بطنی	بورس فابریسیوس
شاهد (بدون مکمل مس)	٦٤/۸۱	۲۲/۱۷	۲۷/۸۲	۸/٦۵^{ab}	۱/۹۰	۰/۱۲	۰/٤٦	۱/٦۷	۰/۱۵
گلایسین مس	٦٦/۵۷	۱۹/٦٦	۲۸/۷۰	۷/۷۱^{b}	۱/۹۰	۰/۱۱	۰/۵۳	۱/۳٦	۰/۱٦
سولفات مس	٦٤/۸۷	۲۰/۳۹	۲۹/۱۷	۸/٤٦^{ab}	۱/۸٤	۰/۱۳	۰/۵۳	۱/۲۷	۰/۳٤
نانوکلات مس	٦۵/۰۰	۲۲/۰۰	۲۸/۸۷	۹/۳٤^{a}	۱/۸۷	۰/۱۰	۰/٤۸	۱/۲٦	۰/۲۱
نانوگلایسین مس	٦۳/۵۲	۲۰/٤۹	۲۹/۱۲	۸/۹۳^{ab}	۱/٦۲	۰/۰۸	۰/٤۸	۱/۱۰	۰/۲۹
میانگین خطای استاندارد	۰/۹۷	۰/۸۵	۰/٦۳	۰/۳۲	۰/۰۷	۰/۰۱	۰/۰۳	۰/۱٦	۰/۰٦
P Value	۰/۳٦	۰/۲٤	۰/۵۸	۰/۰٤	۰/۰۷	۰/۲٦	۰/۵۰	۰/۲٤	۰/۱٦

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$).

۱. مقدار مس تأمین‌شده از منابع مورد مطالعه برابر ۱٦ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره می‌باشد.

از بین‌رفتن باکتری‌های گونه کلستریدیوم و سموم حاصل از فعالیت آن‌ها سبب کاهش آسیب به بافت روده شده و در نتیجه وزن روده و در نهایت وزن دستگاه گوارش کاهش می‌یابد [۱۵]. در آزمایش حاضر نیز کاهش وزن نسبی دستگاه گوارش پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی گلایسین مس می‌تواند تا حدودی به‌دلیل کاهش جمعیت کل میکروبی ایلئوم روده کوچک (جدول ۷) نسبت به پرندگان تغذیه‌شده با سایر جیره‌ها باشد.

تفاوتی در تعداد گلبول‌های سفید خون، درصد لنفوسیت، هتروفیل و تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل در بین پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی منابع مختلف مس مشاهده نشد. هم‌چنین، اثر منابع مختلف مس بر غلظت کلسترول، تری‌گلیسرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا در خون جوجه‌های گوشتی معنی‌دار نبود (جدول ۵).

گزارش شده است که افزودن سطوح ۷۵، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس به جیره جوجه‌های گوشتی اثری بر درصد لنفوسیت و هتروفیل در سنین ۲۱ و ۴۲ روزگی نداشت [۱۷]. در پژوهشی، مکمل‌کردن ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع سولفات مس میزان کلسترول پلاسما را نسبت به تیمار شاهد که حاوی ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع سولفات مس و تیمار متیونین مس با سطح ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس کاهش داد، اما تفاوتی با سطح ۱۲۵ میلی‌گرم مس از منبع متیونین مس نداشت. هم‌چنین مشاهده شد که سطوح و مکمل‌های استفاده شده تأثیری بر میزان تری‌گلیسرید و HDL نداشتند. هر چند که در تیمارهای مکمل‌شده با منابع مس نسبت به تیمار شاهد سطح HDL افزایش پیدا کرد ولی از لحاظ آماری معنی‌دار نبود [۱۶]. کاهش در سطح کلسترول می‌تواند به‌علت تأثیر غلظت بالای مس از منبع سولفات مس بر کاهش گلوتاتیون باشد که سبب کاهش تحریک ۳-هیدروکسی ۳-متیل گلوتاریل کوآنزیم آ ردوکتاز و در نهایت کاهش تولید کلسترول می‌شود. سطوح بالاتر از حد طبیعی مکمل مس در برخی آزمایش‌ها سبب کاهش تری‌گلیسرید پلاسما شده است [۱].

جدول ۵. اثر منابع مختلف مس[1] بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی و ایمنی خون جوجه‌های گوشتی

تیمار/صفات	گلبول سفید (۱۰^{۳}× میکرولیتر)	لنفوسیت (درصد)	هتروفیل (درصد)	تیتر نیوکاسل	کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)
شاهد (بدون مکمل مس)	۴۱/۰۰	۸۵/۶۷	۱۴/۳۳	۰/۶۷	۱۱۷/۶۷	۶۸/۳۳	۷۹/۶۰
گلایسین مس	۳۵/۱۷	۸۳/۳۳	۱۶/۶۷	۲/۰۰	۱۴۴/۰۰	۴۵/۳۳	۸۸/۹۰
سولفات مس	۳۵/۸۳	۸۳/۳۳	۱۶/۶۷	۰/۳۳	۹۲/۳۳	۶۱/۶۷	۷۵/۲۰
نانوکلات مس	۳۲/۴۳	۸۲/۰۰	۱۸/۰۰	۱/۰۰	۱۳۰/۶۷	۷۵/۶۷	۸۱/۴۰
نانوگلایسین مس	۳۲/۶۰	۸۴/۳۳	۱۵/۶۷	۱/۰۰	۱۲۶/۰۰	۶۸/۰۰	۸۳/۹۳
میانگین خطای استاندارد	۳/۷۸	۱/۸۹	۱/۸۹	۰/۶۷	۱۸/۹۴	۹/۹۹	۴/۰۶
P Value	۰/۵۳	۰/۷۲	۰/۷۲	۰/۵۱	۰/۴۴	۰/۳۳	۰/۲۶

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P <۰/۰۵). HDL: لیپوپروتئین با چگالی بالا.

۱. مقدار مس تأمین‌شده از منابع مورد مطالعه برابر ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره می‌باشد.

میزان ظرفیت نگهداری آب و pH در زمان‌های صفر و دو ساعت پس از کشتار گوشت‌های ران و سینه پرندگان تحت تأثیر منابع مختلف مس قرار نگرفت (جدول ٦). بعد از سه روز نگهداری گوشت پرندگان در یخچال، میزان تولید مالون‌دی‌آلدهید در گوشت سینه پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سولفات مس و نانوکلات مس بیش‌تر از پرندگان دریافت‌کننده جیره‌های بدون مس و گلایسین مس بود (P<۰/۰۱). هم‌چنین، سطوح مالون‌دی‌آلدهید تولیدی در گوشت ران پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی منابع مختلف مس و جیره بدون مس تفاوت معنی‌داری نداشت. بعد از شش روز نگهداری گوشت پرندگان در یخچال، غلظت‌های مالون‌دی‌آلدهید گوشت سینه پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی نانوکلات مس و گوشت ران پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی سولفات مس بیش‌تر از گوشت پرندگان تغذیه‌شده با سایر جیره‌ها بود (P<۰/۰۱). هم‌چنین غلظت مالون‌دی‌آلدهید گوشت‌های ران و سینه پرندگان بعد از سه روز نگهداری در یخچال نسبت به شش روز نگهداری گوشت در یخچال کم‌تر بود (جدول ٦).

اکسیداسیون لیپید یک شاخص کیفی مهم برای چربی‌ها، گوشت و فرآورده‌های گوشتی به‌شمار می‌رود، زیرا لیپیدهای اکسیدشده فقط رنگ، طعم، بو و یا ارزش غذایی خوراک را تغییر نمی‌دهند بلکه سبب وقوع اثرات بیولوژیکی مضر بر سلامت انسان می‌شوند. تولید مالون‌دی‌آلدهید تا حدود زیادی فساد اکسیداتیو را بیان می‌کند. افزودن ۲۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع سولفات مس به جیره جوجه‌های گوشتی سبب افزایش پراکسیداسیون چربی خون و کبد جوجه‌های گوشتی شد [۱]. هم‌چنین، افزودن ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع پروتئینات مس به جیره جوجه‌ها سطح مالون‌دی‌آلدهید پلاسما را افزایش داد درحالی‌که این سطح مس به‌همراه ٤۰۰ میلی‌گرم کارنیتین، اختلافی با تیمار شاهد نداشت. رادیکال‌های پراکسید چربی سبب آسیب سلولی با افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و یا اتصال مستقیم به DNA و یا سایر ماکرومولکول‌ها نظیر پروتئین‌ها می‌شود [۹]. در آزمایش حاضر، میزان اکسیداسیون گوشت پرندگان دریافت‌کننده مکمل‌های سولفات مس و نانوکلات مس در جیره بیش‌تر از پرندگان دریافت‌کننده مکمل‌های گلایسین مس و نانوگلایسین مس بود.

pH نهایی گوشت تحت تأثیر شرایط پیش از کشتار (مانند تغذیه و استرس)، تیمارهای پس از کشتار و فیزیولوژی عضله است. ذخیره گلیکوژنی کم عضله در هنگام کشتار مانع از این می‌شود که pH پس از کشتار به مقدار مطلوبی کاهش یابد. pH نهایی بالاتر ماندگاری گوشت را کاهش داده و روی رنگ، بافت و ظرفیت نگهداری آب گوشت تأثیر می‌گذارد. بعد از این‌که pH به حداقل خود می‌رسد با گذشت زمان و رسیدن گوشت، تجزیه پروتئین‌ها، افزایش بار ناشی از جذب یون‌های پتاسیم و رهایش یون‌های کلسیم سبب افزایش فشار اسمزی و در نتیجه افزایش pH می‌شوند [۱۱]. تزریق درون تخم‌مرغی مکمل نانومس و سولفات‌مس سبب کاهش pH عضله سینه و هم‌چنین نانومس سبب کاهش pH عضله ران جوجه‌ها شد. هم‌چنین ظرفیت نگهداری آب در گوشت سینه نسبت به تیمار شاهد در تیمارهای مکمل‌شده افزایش قابل مشاهده‌ای داشت، اما در گوشت ران مکمل سولفات‌مس سبب کاهش ظرفیت نگهداری آب شد. ظرفیت نگهداری آب وابسته به pH می‌باشد و هم‌چنین ظرفیت نگهداری بالای آب نشان‌دهنده استفاده و فرآوری بهتر گوشت و در نهایت کیفیت بهتر محصولات نهایی می‌شود [۱۵]. در آزمایش حاضر، ظرفیت نگهداری آب و pH گوشت سینه و ران پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی منابع مس تحت تأثیر قرار نگرفتند و این موضوع می‌تواند نتیجه استفاده از سطوح پایین مکمل مس نسبت به پژوهش‌هایی باشد که از سطوح بالاتر مس در جیره استفاده کرده‌اند.

جدول ٦. اثر منابع مختلف مس[1] بر ظرفیت نگهداری آب و pH گوشت و میزان مالون‌دی‌آلدهید (میلی‌گرم در کیلوگرم) گوشت سینه و ران جوجه‌های گوشتی

تیمار/صفات	ظرفیت نگهداری آب	pH گوشت سینه		pH گوشت ران		گوشت سینه		گوشت ران	
	گوشت سینه	گوشت ران	زمان صفر	دو ساعت بعد از کشتار	زمان صفر	دو ساعت بعد از کشتار	۳ روز	٦ روز	۳ روز	٦ روز
شاهد (بدون مکمل مس)	٦١/٢٨	٦٤/٨٢	٦/٥٦	٥/٦٦	٦/٣١	٦/٠٠	٠/١٢^{b}	٠/٢٥^{b}	٠/٢٨	٠/٣٧^{b}
گلایسین مس	٥٨/٩٨	٦٤/٢٠	٦/٥١	٥/٥٠	٦/٠٨	٥/٧٠	٠/٠٦^{b}	٠/١٧^{b}	٠/١٧	٠/٢٩^{b}
سولفات مس	٦٦/٠٢	٦٤/٣٣	٦/٧٨	٥/٦١	٦/٢٧	٥/٦٦	٠/٢٩^{a}	٠/٢٧^{b}	٠/٢٢	٠/٧٥^{a}
نانوکلات مس	٥٨/٧٢	٦٧/٥٠	٦/٦٦	٥/٨٩	٦/٢٦	٥/٩٤	٠/٣٠^{a}	٠/٦٦^{a}	٠/٢٥	٠/٣٤^{b}
نانوگلایسین مس	٦١/٩٠	٦٧/٢٣	٦/٥٥	٥/٨٤	٦/١٣	٥/٨٣	٠/١٧^{ab}	٠/٣٣^{b}	٠/٢٢	٠/٢٢^{b}
میانگین خطای استاندارد	٢/٦٤	٢/٧٥	٠/١٥	٠/١٣	٠/١٠	٠/١٤	٠/٠٣	٠/٠٤	٠/٠٤	٠/٠٥
P value	٠/٣٥	٠/٨٤	٠/٧٣	٠/٢٦	٠/٤٧	٠/٤٣	٠/٠٠٢	٠/٠٠٠١	٠/٢٩	٠/٠٠٠٤

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P <٠/٠٥).

١. مقدار مس تأمین‌شده از منابع مورد مطالعه برابر ١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره می‌باشد.

منابع مختلف مس جیره اثر معنی‌داری بر جمعیت لاکتوباسیلوس‌های ایلئوم جوجه‌های گوشتی نداشتند (جدول ٧). بیش‌ترین جمعیت میکروبی ایلئوم در پرندگان تغذیه‌شده با جیره‌های حاوی سولفات مس و بدون مس در مقایسه با پرندگان دریافت‌کننده جیره گلایسین مس مشاهده شد (P<٠/٠١).

جدول ٧. اثر منابع مختلف مس[1] بر جمعیت میکروبی (log_{10} cfu/g) محتویات ایلئوم جوجه‌های گوشتی

تیمار/ صفات	لاکتوباسیلوس	کل جمعیت میکروبی
شاهد (بدون مکمل مس)	٥/٢٨	٦/٦٧^{a}
گلایسین مس	٤/٧٨	٦/٢١^{b}
سولفات مس	٤/٩٨	٦/٧١^{a}
نانوکلات مس	٥/٢٣	٦/٣١^{ab}
نانوگلایسین مس	٤/٨٣	٦/٣١^{ab}
میانگین خطای استاندارد	٠/١٩	٠/٠٩
P Value	٠/٤٠	٠/٠٠٩

a-c: تفاوت میانگین‌ها با حروف نامشابه در هر ستون معنی‌دار است (P<٠/٠٥).

١. مقدار مس تأمین‌شده از منابع مورد مطالعه برابر ١٦ میلی‌گرم در کیلوگرم در جیره می‌باشد.

سطح ١٠٠ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع نانوذرات کیتوزان مس سطح لاکتوباسیلوس موجود در محتویات سکومی را افزایش داد، ولی سطوح ٥٠ و ١٥٠ میلی‌گرم تفاوتی نسبت به شاهد ایجاد نکردند. هم‌چنین این جمعیت در گروه مکمل‌شده با آنتی‌بیوتیک کلروتتراسایکلین اختلافی با شاهد و تیمارهای مکمل‌شده با نانوذرات کیتوزان مس نداشت، اما جمعیت کلی‌فرم‌ها با افزودن مکمل مس و آنتی‌بیوتیک کاهش یافت [٢٢]. نانوذرات کیتوزان مس می‌تواند رشد اشریشیاکلی را محدود کند. به‌نظر می‌رسد نانوذرات کیتوزان مس فعالیت برخی میکروب‌ها را محدود می‌کند و سبب فراهم‌شدن محیط رشد بهتری برای لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌شود [٩]. سطح ٣٦/٧٥ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منبع سولفات مس اثری بر جمعیت کل باکتریایی، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، کلستریدیوم و اشریشیاکلی موجود در روده کوچک و سکوم جوجه‌های گوشتی نداشت. درحالی‌که تیمار حاوی مونتموریلونت حامل مس (یک نوع سیلیکات تجاری حامل مس)، جمعیت

کلستریدیوم و اشریشیاکلی روده کوچک و سکوم جوجه‌ها را نسبت به تیمار شاهد و سولفات مس، کاهش داد [۲۳]. سطوح ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منابع متیونین مس و پروتئینات مس سبب افزایش کل جمعیت باکتریایی روده باریک در مقایسه با آنتی‌بیوتیک آویلامایسین شدند. هم‌چنین جمعیت لاکتوباسیلوس هم در این تیمارهای حاوی مکمل‌های مس افزایش پیدا کردند. هم‌چنین جمعیت کلستریدیوم و اشریشیاکلی در تیمار حاوی آنتی‌بیوتیک کاهش بیش‌تری در مقایسه با تیمارهای حاوی مکمل مس داشتند [۱۳]. در آزمایش حاضر پرندگان تغذیه‌شده با جیره حاوی گلایسین مس دارای جمعیت میکروبی ایلئوم کم‌تری نسبت به سایر جیره‌ها بودند.

به‌طورکلی با توجه به نتایج این، استفاده از سطح ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم مس از منابع آلی و معدنی و نانو در جیره، تأثیری بر صفات عملکرد رشد، ایمنی و جمعیت میکروبی ایلئوم جوجه‌های گوشتی ندارد. با این‌حال استفاده از مکمل‌های گلایسین مس و نانوگلایسین مس در جیره میزان اکسیداسیون گوشت را کاهش می‌دهد انجام مطالعات بیش‌تر در این خصوص توصیه می شود.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه تهران- دانشکدگان ابوریحان به‌خاطر حمایت مالی برای اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1. Ajuwon OR and Idowu OMO (2010) Vitamin c attenuates copper-induced oxidative damage in broiler chickens. African Journal of Biotechnology, 9(44): 7525-7530.
2. Ajuwon OR, Idowu OMO, Afolabi SA, Kehinde BO, Oguntola O and Olatunbosun KO (2011) The effects of dietary copper supplementation on oxidative and antioxidant system in broiler chickens. Archivos De Zootecnia, 60(230): 275-282.
3. Arias VJ and koutsos EA (2006) Effects of copper source and level on intestinal physiology and growth of broiler chickens. Poultry Science, 85(6): 999-1007.
4. Arshami J, Hoseini S and Torshizi ME (2010) Immunomodulatory effects of graded copper and zinc on srbc titer and lymphoid organs in broiler chicks. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9 (10): 1510-1514.
5. Aviagen (2014) Ross 308 broiler nutrition specification. Huntsville: Avigene incorporated publishing.
6. Barlow S, Chesson A, Collins JD, Flynn A, Hardy A, Dieter K and Le Neindre P (2009) Scientific opinion. The potential risks arising from nanoscience and nanotechnologies on food and feed safety. Scientific opinion of the scientific committee. European Food Safety Authority, 958: 1-39.
7. Bertram HC, Andersen HJ and Karlsson AH (2001) Comparative study of low-field NMR relaxation measurements and two traditional methods in the determination of water holding capacity of pork. Meat Science, 57: 125-132.
8. Botsoglou NA, Florou-Paneri E, Christaki D, Fletouris J and Spais AB (2002) Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast thigh and abdominal fat tissues. British Poultry Science, 43: 223-230.
9. Güçlü BK, Kara K, Beyaz L, Uyanik F, Eren M and Atasever A (2008) Influence of dietary copper proteinate on performance, selected biochemical parameters, lipid peroxidation, liver, and egg copper content in laying hens. Biological Trace Element Research, 125(2): 160-169
10. Hashemi SR, Zulkifli I, Davoodi H, Zunita Z and Ebrahimi M (2012) Growth performance, intestinal microflora, plasma fatty acid profile in broiler chickens fed herbal plant (Euphorbia hirta) and mix of acidifiers. Animal Feed Science and Technology, 178:167–174.
11. Kadim IT, Mahgoub O, Al-Kindi A, Al-Marzooqi W and Al-Saqri NM (2006) Effects of transportation at high ambient temperatures on physiological responses, carcass and meat quality characteristics of three breeds of omani goats. Meat Science, *73*(4): 626-634.

12. Karimi A, Sadeghi G and Vaziry A (2011) The effect of copper in excess of the requirement during the starter period on subsequent performance of broiler chicks. Journal of Applied Poultry Research, 20(2):203-209.
13. Kim GB, Seo YM, Shin KS, Rhee AR, Han J and Paik IK (2011) Effects of supplemental copper-methionine chelate and copper-soy proteinate on the performance, blood parameters, liver mineral content, and intestinal microflora of broiler chickens. Journal of Applied Poultry Research, 20(1): 21-32.
14. Mohammadi V, Ghazanfari S, Mohammadi-Sangcheshmeh A and Nazaran MH (2015) Comparative effects of zinc-nano complexes, zinc-sulphate and zinc-methionine on performance in broiler chickens. British Poultry Science, 56(4): 486–493.
15. Mroczek-Sosnowska N, Lukasiewicz M, Wnuk A, Sawosz E, Niemiec J, Skot A, Jaworski S and Chwalibog A (2015) In ovo administration of copper nanoparticles and copper sulfate positively influences chicken performance. Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(9): 3058-3062.
16. Paik IK, Seo SH, Um JS, Chang MB and Lee BH (1999) Effects of supplementary copper-chelate on the performance and cholesterol level in plasma and breast muscle of broiler chickens. Asian Australasian Journal of Animal Sciences, 12: 794-798.
17. Samanta B, Ghosh PR, Biswas A and Das SK (2011) The effects of copper supplementation on the performance and hematological parameters of broiler chickens. Asian-Australas Journal of Animal Science, 24(7): 1001-1006.
18. SAS Institute (2005) SAS®/STAT Software, Release 8. SAS Institute, Inc., Cary, NC
19. Sawosz E, Lukasiewicz M, Lozicki A, Sosnowska M, Jaworski S, Niemiec J, Skot A, Jankowski J, Jozefiak D and Chwalibog A (2018) Effect of copper nanoparticles on the mineral content of tissues and droppings, and growth of chickens. Archives of Animal Nutrition, 72(5): 396-406.
20. Soetan KO, Olaiya CO and Oyewole OE (2010) The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants-a review. African Journal of Food Science, 4(5): 200-222.
21. Toghyani M, Gheisari A, Ghalamkari G and Mohammadrezaei M (2010) Growth performance, serum biochemistry and blood hematology of broiler chicks fed different levels of black seed (Nigella sativa) and peppermint (Mentha piperita). Livestock Science, 129: 173-178.
22. Wang C, Wang MQ, Ye SS, Tao WJ and Du YJ (2011) Effects of copper-loaded chitosan nanoparticles on growth and immunity in broilers. Poultry Science, 90(10): 2223-2228.
23. Xia MS, Hu CH and Xu ZR (2004) Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. Poultry Science, 83(11): 1868-1875.