

Evaluating the nutritional effects of bovine bone broth powder on growth performance, blood parameters and tibia bone mineralization in broiler chickens

Ali Khabiri¹, Abolghasem Golian¹, Ahmad Hassanabadi^{1*}, Heydar Zarghi¹

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2024.89264.1214>

Introduction: A significant challenge in the poultry industry is reducing soy consumption in commercial diets by substituting it with alternative vegetable and animal protein sources (Adeola et al., 2018). The imbalance between supply and demand for soy and the lack of alternative feed ingredients with a similar amino acid profile have limited these substitutions (Anwar et al., 2016). Due to recent soybean supply issues, efforts have been made to explore new protein sources for poultry feed, including animal proteins like meat meal (Ravindran et al., 2002; Adeola et al., 2018), fish meal (Anoh and Akpet, 2013), feather meal (Hasni et al., 2014), insect larvae, and soldier flies (Iqbal et al., 2019). Recently, gelatin from bone has emerged as a protein and organic phosphorus source, usable in raw, liquid, or dried forms in poultry diets (Alipal et al., 2021). However, the characteristics of bovine bone broth powder (BBP), such as metabolizable energy, amino acid digestibility, and protein quality, have not been thoroughly evaluated. This research aimed to address some needs of the broiler industry by investigating the impact of adding BBP to diets on growth performance, blood parameters, and tibia mineralization in broiler chicks. Additionally, BBP production is seen as a promising strategy to mitigate the environmental impact of bone waste.

Materials and Methods: The complete skeleton and air-dried bones of cows (excluding skull bones), free of soft tissues, were collected for processing. These bones were placed in an extraction pot, sealed, and boiled at a pressure of 1 bar and a temperature of 130°C for 8 h. The resulting liquid was processed into bovine bone broth powder (BBP) with 20% dry matter using a disk model spray dryer with a capacity of 1.5 tons per h. The chemical composition of the BBP was analyzed. Additionally, in a separate unpublished study, the metabolizable energy and ileal digestibility of amino acids in BBP were assessed. The metabolizable energy and nutrient composition of the main diet ingredients (corn and soybean meal) were determined using near-infrared reflection (NIR) spectroscopy. These results were used to formulate the experimental diets. Three independent experiments were conducted in different age periods: 1-10 d (first trial), 11-24 d (second trial), and 25-42 d (third trial). Each trial involved 240 one-day-old Ross 308 broilers, randomly assigned to 4 experimental treatments, each with 6 replicates of 10 birds in a completely randomized design. In the second and third trials, birds were fed a commercial diet until 10 and 24 days of age, respectively, before starting the nutritional treatments. The experimental diets consisted of: 1. Basal diet, 2. Diet with 2% BBP, 3. Diet with 4% BBP, 4. Diet with 6% BBP. Diets were formulated according to the 2019 recommendations for the commercial Ross 308 strain. Data from the experiments were statistically analyzed using the GLM procedure in SAS software version 9.4. The effects of BBP levels were assessed using regression analysis for linear and quadratic effects, and means were compared using Tukey's test at a significance level of $P < 0.05$.

Results: The study found that incorporating 2% BBP in the diet significantly increased daily weight gain in the second and third trials compared to the control group, although higher levels reduced this effect. During the starter period, feed consumption in the BBP groups was significantly higher than the control. Specifically, the group receiving 4% BBP consumed more feed in the first and second trials than the control, while the other groups showed no significant difference. The feed conversion ratio was significantly lower in the second and third trials for groups receiving 2% or 4% BBP compared to the control, but it was higher for the 6% group. Regarding blood parameters, the BBP at the level of 2% of the diet significantly reduced the blood phosphorus concentration of the birds in the starter period compared to the control treatment; But the difference between the 4 and 6% with the control treatment was not significant. The BBP significantly increased blood phosphorus concentration in the grower period in all three levels compared to the control. The BBP significantly increased the blood LDL-c concentration in the finisher period compared to the control treatment. The BBP at all three levels used significantly increased the blood iron concentration in the grower period compared to the control. The effect of treatments on the concentration of minerals in tibia bone ash, including calcium, phosphorus, zinc and manganese, was not significant in any of the rearing periods.

Conclusion: Broilers exhibited optimal growth performance with up to 4% inclusion of BBP in their diet. However, when the BBP level reached 6%, growth performance declined. An increase in BBP also led to reduced feed consumption. Additionally, a diet containing 6% BBP resulted in higher cholesterol and LDL-c levels, as well as increased mineral concentrations in serum and tibia. Overall, based on these findings, it is recommended to include BBP in broiler diets at a maximum of 4%.

Keywords: blood metabolites, bone broth powder, broiler chickens, performance, tibia bone

مطالعه تأثیرات تغذیه‌ای پودر عصاره استخوان گاو بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خونی و معدنی شدن استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی

محمدعلی خبیری نوغانی^۱، ابوالقاسم گلیان^۱، احمد حسن آبادی^{۱*}، حیدر زرقی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۳

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

* نویسنده مسئول: hassanabadi@um.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/IJASR.2024.89264.1214>

چکیده

با استفاده از ۷۲۰ قطعه جوجه گوشتی سویه راس ۳۰۸؛ سه آزمایش مستقل با هدف بررسی اثر پودر عصاره استخوان گاو (مکمل پروتئینی) بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خون و معدنی شدن استخوان جوجه‌های گوشتی در سه دوره سنی آغازین (آزمایش اول)، رشد (آزمایش دوم) و پایانی (آزمایش سوم) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، شش تکرار و ۱۰ قطعه جوجه در هر تکرار انجام شد. تیمارهای غذایی در هر آزمایش عبارت بودند از: ۱- جیره پایه؛ ۲- جیره حاوی

دو درصد پودر عصاره استخوان گاو ؛ ۳- جیره حاوی چهار درصد پودر عصاره استخوان گاو ؛ و ۴- جیره حاوی شش درصد پودر عصاره استخوان گاو. نتایج نشان داد استفاده از دو درصد پودر عصاره استخوان در جیره باعث افزایش معنی دار اضافه وزن روزانه در هر یک از دوره های رشد و پایدانی نسبت به تیمار شاهد شد، ولی سطوح بالاتر باعث کاهش این شاخص گردید. مصرف خوراک در جوجه های دریافت کننده پودر عصاره استخوان گاو در دوره آغازین به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود. مصرف خوراک در جوجه های دریافت کننده جیره حاوی ۴ درصد مکمل پروتئینی نیز، در دوره های آغازین و رشد به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد بود. ضریب تبدیل خوراک در هر یک از دوره های رشد و پایدانی در جوجه های دریافت کننده ۲ و ۴ درصد مکمل پروتئینی به طور معنی داری کمتر از تیمار شاهد ولی در گروه ۶ درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. مکمل پروتئینی در سطح دو درصد جیره، غلظت فسفر خون جوجه ها در دوره آغازین را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری کاهش داد؛ اما تفاوت سطوح چهار و شش درصد با تیمار شاهد معنی دار نبود. این مکمل پروتئینی در هر سه سطح مورد استفاده، غلظت فسفر خون در دوره رشد را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش داد. مکمل پروتئینی غلظت LDL-C خون در دوره پایدانی را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش داد. مکمل پروتئینی در هر سه سطح مورد استفاده، غلظت آهن خون در دوره رشد را نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش داد. اثر تیمارها بر غلظت مواد معدنی خاکستر استخوان درشت نی شامل کلسیم، فسفر، روی و منگنز در هیچ یک از دوره های پرورش معنی دار نبود. به طور کلی با توجه به نتایج این آزمایش، استفاده از پودر عصاره استخوان گاو تا ۴ درصد در جیره جوجه های گوشتی توصیه می شود.

واژه های کلیدی: پودر عصاره استخوان، جوجه گوشتی، درشت نی، عملکرد رشد، فراسنجه های خون

مقدمه

یکی از بزرگترین چالش ها در صنعت پرورش طیور کاستن از میزان سویای مصرفی در جیره های تجاری و جایگزینی آن با سایر منابع پروتئین گیاهی و حیوانی می باشد (Adeola et al., 2018). بر اساس آمارهای ارائه شده از جهاد کشاورزی و انجمن پرورش دهندگان جوجه یک روزه کشور، ایران ششمین کشور وارد کننده سویا در جهان محسوب می شود و نزدیک به ۶ میلیون تن کنجاله سویا به صورت سالانه وارد می کند. از طرفی بررسی روند تولید این محصول پروتئینی در جهان نشان می دهد که میانگین تولید ۱۶۵ تا ۱۸۰ میلیون تن سویا از سال ۲۰۱۱ به بعد روند کاهشی داشته و افزایش تقاضا برای این محصول استراتژیک منجر به افزایش قیمت آن در بازارهای جهانی شده است (Tacon, 2023). شیوع بیماری هایی از قبیل همه گیری کووید ۱۹ نیز این مسئله را می تواند تشدید کند (Shakeri et al., 2023a,b). به همین دلیل، یکی از دغدغه های متخصصان تغذیه طیور در جهان، پیدا کردن منابع پروتئینی جایگزین سویا و یا استفاده از خوراک ها و روش هایی برای کاهش سهم سویا در جیره های طیور می باشد (WHO, 2023). استفاده از سایر منابع پروتئینی جایگزین کنجاله سویا در جیره ها، منجر به کاهش قیمت تمام شده خوراک خواهد شد. با توجه به قیمت بالای این ماده و نبود جایگزین مناسب برای آن در جیره جوجه های گوشتی، ایجاد وابستگی شدید به این محصول امری اجتناب ناپذیر شده است (Mutucumarana et al., 2015). همچنین، عدم تعادل در عرضه و تقاضا و نبود ترکیباتی با تعادل اسید آمینه ای مشابه کنجاله سویا، امکان استفاده از محصولات دیگر را محدود کرده است (Anwar et al., 2016). با توجه به مشکلات تأمین و قیمت بالای سویا در چندین سال گذشته، تلاش های زیادی جهت استفاده از منابع جدید پروتئینی در تغذیه طیور انجام شده است. این منابع شامل پروتئین های حیوانی مختلفی همچون پودر گوشت (Ravindran et al., 2002؛ Adeola et al., 2018) پودر ماهی (Anoh and Akpet, 2013) پودر پر (Hasni et al., 2014) لارو حشره و مگس سرباز (Iqbal et al., 2019) می باشد. استفاده از این گونه منابع جهت تغذیه می تواند

جایگزین مناسبی جهت بهبود عملکرد رشد، افزایش راندمان خوراک و همچنین تأمین احتیاجات پروتئین حیوانی باشد. با توجه به این که متخصصان تغذیه ترجیح می‌دهند از منابع گیاهی یا دانه‌های سویا، کلزا و آفتابگردان در جیره‌های غذایی استفاده کنند، اما استفاده از منابع پروتئینی حیوانی از سال‌های دور در تغذیه طیور مرسوم بوده است (Makkar et al., 2022). در تحقیقی (Nouri et al., 2020)، افزودن ژلاتین هیدرولیز شده به روش اسیدی به جیره جوجه‌های گوشتی تأثیر مثبتی در قابلیت هضم پروتئین و عملکرد رشد پرند ایجاد نکرد؛ اما بیرانوند و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که فسفر حاصل از ژلاتین می‌تواند خصوصیات استخوان و قابلیت هضم فسفر را در جوجه‌های گوشتی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بهبود بخشد و حذف کامل منابع فسفات معدنی از جیره جوجه‌های گوشتی با گنجاندن ۳۶ گرم بر کیلوگرم ژلاتین با فسفر بالا، امکان پذیر است (Beyranvand et al., 2019).

با وجودی که کیفیت پروتئین‌های حیوانی مناسب‌تر از پروتئین‌های گیاهی است، با این حال برخی از این منابع مانند پودر گوشت، پودر پر و استخوان ممکن است به دلیل بالا بودن بار میکروبی مستعد آلودگی به سالمونلا باشند. همچنین استفاده از منابع پروتئینی حیوانی دیگری از جمله پودر ماهی نیز به دلیل وجود تری‌متیل‌آمین در آن، باعث ایجاد بوی نامطبوع و طعم ناخوشایند ماهی در گوشت و تخم مرغ و ایجاد فرسایش سنگدان به دلیل گیزورسین بالا در پرندگان می‌شود (Schøyen et al., 2007). از طرفی حرارت بالا به منظور اطمینان از عمل‌آوری مناسب فرآورده‌های جانبی طیور، مانند پودر گوشت، پودر استخوان و پودر ماهی، ممکن است باعث تخریب بعضی از اسیدهای آمینه شده و قابلیت دسترسی آنها را کاهش دهد (Galkanda-Arachchige et al., 2020). ژلاتین استحصال شده از استخوان در سال‌های اخیر به‌عنوان منبع پروتئینی و فسفر آلی مورد توجه قرار گرفته است که می‌توان از آن چه به‌صورت خام یا مایع و همچنین به صورت خشک شده، در تغذیه دام و به‌ویژه طیور بهره برد (Alipal et al., 2021). با این حال، ویژگی‌های این محصول (پودر عصاره استخوان) از جمله مقدار انرژی قابل متابولیسم، قابلیت هضم اسیدهای آمینه و کیفیت پروتئین آن تاکنون به‌طور دقیق اندازه‌گیری نشده است.

با توجه به کمبود و محدودیت‌های مطرح شده در تأمین و استفاده از منابع پروتئینی گیاهی و نوسانات قیمتی و کیفیتی در منابع پروتئینی حیوانی، بنظر می‌رسد تحقیق حاضر تا حدودی پاسخگوی نیاز صنعت پرورش جوجه‌های گوشتی باشد. همچنین، تولید پودر عصاره استخوان به‌عنوان یک استراتژی مطلوب برای کاهش اثرات زیست محیطی مرتبط با ضایعات استخوان مطرح می‌شود. با تبدیل این منبع پروتئینی به شکل پودری، می‌توان آلودگی آب را کاهش داد، مواد مغذی را بازیابی کرد و رویکرد پایدارتری در فرآوری استخوان داشت. بدین ترتیب، هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر افزودن پودر عصاره استخوان گاو به جیره بر عملکرد رشد، فراسنجه‌های خون و مواد معدنی موجود در استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه پودر عصاره استخوان گاو

استخوان‌های اسکلت کامل و هوا خشک گاو (به‌جز استخوان‌های جمجمه) که فاقد بافت‌های نرم بودند، جمع‌آوری و به دیگ عصاره‌گیری با گنجایش ده متر مکعب انتقال یافت. این دیگ دارای دو بخش بالایی و پایینی بود که بوسیله توری فلزی از یکدیگر جدا شده بودند. استخوان‌ها در قسمت بالایی روی توری ریخته شد و در قسمت پایینی دیگ آب قرار داشت. پس از قراردادن استخوان‌ها در داخل دیگ، درب آن کاملاً بسته شد و محتویات داخل دیگ به مدت ۸ ساعت در فشار یک بار در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد. در این مدت، جوشیدن آب باعث خروج چربی و عصاره آن گردید. این فرآیند سه مرتبه تکرار شد و در هر بار چربی روی عصاره جمع‌آوری و جدا شد. در نهایت، مایع باقیمانده به

عنوان عصاره استخوان گاو که ۲۰ درصد ماده خشک داشت تهیه گردید. پس از تهیه این عصاره، ماده خشک آن با استفاده از اسپری درایر مدل دیسکی به ظرفیت ۱/۵ تن در ساعت، به صورت پودر استحصال گردید. ترکیب شیمیایی پودر عصاره استخوان حاصله تعیین شد. در ضمن در آزمایش جداگانه (منتشر نشده) انرژی قابل سوخت و ساز و قابلیت هضم ایلیومی اسیدهای آمینه پودر عصاره استخوان تعیین گردید. انرژی قابل سوخت و ساز و ترکیب مواد مغذی اقلام اصلی جیره (ذرت و کنجاله سویا) نیز به روش طیف بینی مادون قرمز نزدیک انعکاسی (NIR) تعیین شد (جدول ۱). نتایج حاصله برای تنظیم جیره‌های آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

جدول ۱. آنالیز شیمیایی کنجاله سویا، ذرت و پودر عصاره استخوان گاو (مکمل پروتئینی) مورد استفاده در هر سه آزمایش

Table 1. Chemical analysis of main ingredients used in all the three experiments

آیتم (% ماده خشک) Item (%DM)	عصاره پودر استخوان Bone Broth Powder	ذرت Corn	کنجاله سویا Soybean meal
پروتئین خام Crude protein	81.4	7.8	44
چربی خام Ether extract	12.9	3.5	0.5
رطوبت Moisture	1.3	11	10
کلسیم Calcium	0.25	0.01	0.2
فسفر کل Total phosphorus	0.07	0.13	0.33
انرژی خام (کیلوکالری/کیلوگرم) Gross energy (kcal/kg)	5185	-	-
انرژی قابل سوخت و ساز (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)	4578	3300	2550
متیونین قابل هضم Digestible Met	0.49	0.18	0.64
متیونین + سیستین قابل هضم Digestible Met+Cys	0.8	0.27	1.27
لیزین قابل هضم Digestible Lys	4.2	0.16	2.87
ترئونین قابل هضم Digestible Thr	2.28	0.33	1.75

پرنده‌گان و جیره‌های آزمایشی

برای انجام این مطالعه سه آزمایش مستقل؛ در سه دوره سنی ۱۰-۱ روزگی (آزمایش اول)، ۲۴-۱۱ روزگی (آزمایش دوم) و ۴۲-۲۵ روزگی (آزمایش سوم) جوجه‌های گوشتی طراحی شد. در مجموع تعداد ۷۲۰ قطعه جوجه یک‌روزه از سویه راس ۳۰۸ از یک جوجه‌کشی محلی خریداری گردید. ابتدا از این تعداد، ۲۴۰ قطعه جوجه در آزمایش اول استفاده شد و باقیمانده جوجه‌ها با یک جیره استاندارد آغازین تا سن ۱۰ روزگی پرورش یافتند. در آزمایش دوم نیز ۲۴۰ قطعه جوجه به‌طور تصادفی از آنها انتخاب شد و مورد استفاده قرار گرفت. باقیمانده جوجه‌ها با یک جیره رشد استاندارد تا سن ۲۴ روزگی تغذیه شدند. در این زمان، ۲۴۰ قطعه جوجه به‌طور تصادفی برای آزمایش سوم انتخاب شدند. جوجه‌های هر آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در بین ۴ تیمار آزمایشی که هر کدام دارای ۶ تکرار ۱۰ قطعه‌ای بود، به‌طور تصادفی توزیع شدند. پن (جایگاه بستری) مورد استفاده دارای ابعاد ۱۰۰ × ۱۰۰ × ۱۲۰ سانتی‌متر (به ترتیب، طول، عرض و ارتفاع) بود.

جیره‌های آزمایشی مورد استفاده در هر یک از آزمایش‌ها شامل ۱- جیره پایه؛ ۲- جیره حاوی دو درصد پودر عصاره استخوان؛ ۳- جیره حاوی چهار درصد پودر عصاره استخوان؛ ۴- جیره حاوی شش درصد پودر عصاره استخوان بود. جیره‌های آزمایشی بر اساس توصیه سویه تجاری راس ۳۰۸ (۲۰۱۹) تنظیم شدند (جدول ۲). سطوح پودر عصاره استخوان به‌عنوان یکی از اقلام جیره و با توجه به مواد مغذی آن به نحوی به این جیره‌ها افزوده شد که از نظر ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده و همچنین انرژی قابل متابولیسم یکسان باشند. دمای سالن پرورش جوجه‌ها در سن یک‌روزگی ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود که به‌تدریج در هر هفته ۲/۵ درجه سانتی‌گراد کاهش داده شد تا زمانی که به دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد رسید و تا آخر دوره ثابت نگه‌داشته شد. رطوبت نسبی سالن پرورش ۶۰ درصد، برنامه نوری ۱۸ ساعت روشنایی و ۶ ساعت تاریکی بود.

صفات مورد اندازه‌گیری

مصرف خوراک به صورت دوره‌ای اندازه‌گیری و ثبت شد. میانگین افزایش وزن بدن روزانه جوجه‌های هر تکرار با توزین جوجه‌های هر پن در ابتدا و انتهای دوره به دست آمد. قبل از توزین پرندگان، به جوجه‌ها به مدت ۴ ساعت محرومیت مصرف آب و دان تحمیل گردید تا از لحاظ خالی بودن محتویات دستگاه گوارش همسان باشند. ضریب تبدیل غذایی با تقسیم خوراک مصرفی هر جوجه در هر دوره بر میزان افزایش وزن آن به دست آمد. تعداد جوجه‌های تلف شده از هر تکرار به منظور محاسبه درصد تلفات در دوره‌های پرورشی به صورت روزانه ثبت و وزن آن‌ها یادداشت شد. در پایان هر یک از سه آزمایش مستقل (روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲)، دو جوجه از هر پن به طور تصادفی انتخاب و جهت تعیین فراسنجه‌های خون، نمونه‌های خون آن‌ها در لوله‌های آزمایشی بدون ماده ضد انعقاد ریخته شد. نمونه‌ها بلافاصله سانتریفیوژ شده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان لیپیدهای سرم خون شامل کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL-C) و لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL-C) با استفاده از کیت‌های اختصاصی شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری غلظت کلسیم و فسفر پلاسما از روش استاندارد D4638-03 انجمن آمریکا (۲۰۰۴) و روش چند عنصری اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت شونده القایی (ICP-OES^۱) استفاده شد (AOAC, 1995). جهت بررسی مواد معدنی موجود در استخوان درشت نی پرندگان مورد آزمایش، در پایان هر دوره آزمایشی (روزهای ۱۰، ۲۴ و ۴۲)، دو جوجه از هر پن با جابجایی گردن ذبح شدند و پس از خونگیری، استخوان درشت نی پای چپ و راست از پرندگان جدا شد و در کیسه‌های پلاستیکی مهر و موم و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد. پس از چربی زدایی خاکستر آن به‌دست آمد و میزان کلسیم و فسفر، روی، منگنز و آهن موجود در آن محاسبه شد (AOAC, 1995).

جدول ۲. اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های پایه (هوا خشک) در دوره‌های پرورشی مختلف جوجه‌های گوشتی
Table 2. Ingredients and chemical composition of basal diets in different growing periods of broiler chicks; as-fed basis

اجزای خوراک Feed ingredients	آزمایش اول (۱-۱۰ روزگی) First trial (1-10 d)				آزمایش دوم (۱۱-۲۴ روزگی) Second trial (11-24 d)				آزمایش سوم (۲۵-۴۲ روزگی) Third trial (25-42 d)			
ذرت Corn	49.17	53.09	55.82	57.64	52.15	58.74	62.16	63.9	56.44	62.64	66.57	69.59
کنجاله سویا (۴۴٪) Soybean meal (44%)	42.15	38.54	34.7	31.71	38.7	34.28	29.81	26.45	34.07	30.41	25.63	20.99
پودر عصاره استخوان گاو Bovine bone broth powder	0.00	2.00	4.00	6.00	0.00	2.00	4.00	6.00	0.00	2.00	4.00	6.00
روغن سویا Soybean oil	4.20	2.15	1.17	0.31	5.19	1.52	0.44	0.00	5.93	1.68	0.56	0.00
دی کلسیم فسفات Di-calcium	1.56	1.76	1.81	1.84	1.34	1.33	1.39	1.43	1.48	1.03	1.08	1.14

¹-Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy

phosphate												
سنگ آهک Limestone	1.41	1.2	1.18	1.16	1.31	0.95	0.93	0.91	1.01	0.9	0.87	0.85
نمک طعام Common salt	0.19	0.34	0.35	0.35	0.23	0.34	0.34	0.35	0.3	0.27	0.27	0.32
بیکربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.15	0.00	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.00	0.14	0.25	0.1	0.1
دی-ال-متیونین DL-methionine	0.35	0.36	0.38	0.4	0.29	0.32	0.35	0.37	0.27	0.29	0.33	0.36
ال-لیزین هیدروکلرید L-lysine HCl	0.20	0.06	0.09	0.09	0.13	0.02	0.08	0.09	0.1	0.03	0.09	0.15
ال-ترئونین L-threonine	0.12	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.00
مکمل ویتامینی ^۱ Vitamin premix ¹	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
مکمل معدنی ^۲ Mineral premix ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Chemical composition (%; calculated)												
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم) Metabolizable Energy (Kcal/Kg)	3000	3000	3000	3000	3100	3100	3100	3100	3200	3200	3200	3200
پروتئین خام Crude protein	23.00	23.00	23.00	23.00	21.50	21.5	21.5	21.5	19.5	19.5	19.5	19.5
کلسیم Calcium	0.96	0.96	0.96	0.96	0.87	0.87	0.87	0.87	0.79	0.79	0.79	0.79
فسفر قابل دسترس Available Phosphorus	0.48	0.48	0.48	0.48	0.43	0.43	0.43	0.43	0.395	0.395	0.395	0.395
سدیم Sodium	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
متیونین Methionine	0.51	0.7	0.7	0.7	0.47	0.55	0.58	0.59	0.43	0.45	0.46	0.47
متیونین + سیستین Methionine + Cystine	0.95	1	1	1	0.87	0.92	0.93	0.94	0.8	0.83	0.84	0.85
لیزین Lysine	1.28	1.32	1.32	1.32	1.15	1.18	1.18	1.18	1.03	1.08	1.09	1.09
ترئونین Threonine	0.86	0.88	0.88	0.88	0.77	0.81	0.82	0.82	0.69	0.75	0.75	0.75

^۱ مکمل ویتامینی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: ویتامین A، ۱۲۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D₃، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین E، ۸۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K، ۳/۲ میلی‌گرم؛ ویتامین B₁₂، ۰/۰۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۳/۲ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین، ۸/۶ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۶۲/۵ میلی‌گرم؛ اسید فولیک، ۲/۲ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۲۵ میلی‌گرم؛ پیریدوکسین، ۴/۹ میلی‌گرم؛ اسید پنتوتیک، ۱۸/۵ میلی‌گرم. ^۲ مکمل مواد معدنی مواد زیر را در هر کیلوگرم از جیره تأمین می‌کرد: روی، ۱۱۰ میلی‌گرم؛ منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ سسلیوم، ۰/۳۰ میلی‌گرم؛ ید، ۱/۲۵ میلی‌گرم؛ مس، ۱۶ میلی‌گرم؛ آهن، ۲۰/۲ میلی‌گرم.

^۱ Provided per kilogram of diet: Vitamin A, 12500 IU; vitamin D₃, 5000 IU; vitamin E, 80 IU; vitamin K₃, 3.2 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; thiamin, 3.2 mg; riboflavin, 8.6 mg; niacin, 62.5 mg; folic acid, 2.2 mg; biotin, 0.25 mg; pyridoxine, 4.9 mg; pantothenic acid, 18.5 mg.

^۲ Provided per kilogram of diet: Zn, 110 mg; Mn, 120 mg; Se, 0.30 mg; I 1.25 mg; Cu, 16 mg; Fe, 20.2 mg.

مدل آماری

نتایج به‌دست آمده از هر یک از سه آزمایش، بطور مستقل و با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه آماری قرار گرفت (معادله ۱). اثر سطوح پودر عصاره استخوان گاوی با استفاده از روش رگرسیون برای اثرات خطی و درجه دوم تعیین شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

معادله (۱): مدل آماری طرح

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + rep_j(T)_i + e_{ijk}$$
 متغیر وابسته؛ μ : میانگین کل؛ T_i : اثر تیمار؛ $rep_j(T)_i$: اثر تکرار درون هر تیمار؛ e_{ijk} : خطای اندازه‌گیری.

نتایج

با توجه به داده‌های گزارش شده در جدول شماره (۳)، استفاده از مکمل پروتئینی (پودر عصاره استخوان) در جیره نسبت به گروه شاهد (جیره پایه) باعث افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی در سن ۱۰-۱ روزگی شد هر چند این افزایش معنی‌دار نبود ولی پرنده‌هایی که ۲ و ۴ درصد مکمل پروتئینی را دریافت کرده بودند بیش‌ترین افزایش وزن روزانه را به خود اختصاص دادند ($P=0/07$). مصرف خوراک در جوجه‌هایی که پودر عصاره استخوان دریافت کرده بودند نسبت به گروه شاهد در سن ۱۰-۱ روزگی به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت ($P<0/05$). بیش‌ترین مصرف خوراک مربوط به تیمار حاوی ۲ و ۴ درصد پودر عصاره استخوان (۲۶/۹۲ و ۲۵/۶۷ گرم/پرند/روز) در مقایسه با تیمار شاهد (۲۴/۰۶ گرم/پرند/روز) بود. ضریب تبدیل غذایی در تمام گروه‌هایی که پودر عصاره استخوان دریافت کردند نسبت به گروه شاهد به‌طور غیرمعنی‌دار کمتر بود اما روند بهبود ضریب تبدیل غذایی در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد طی دوره ۱۰-۱ روزگی به‌طور خطی (۰/۰۲۱) و درجه دوم (۰/۰۴۳) معنی‌دار بود.

نتایج متابولیت‌های خونی اندازه‌گیری شده در جوجه‌های گوشتی مورد آزمایش مربوط به آزمایش اول (۱۰-۱ روزگی) اعم از کلسترول کل، HDL-c، LDL-c، کلسیم و فسفر در جدول (۳) آمده است. غلظت سرمی کلسترول کل، HDL-c، LDL-c و کلسیم تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0/05$). با این حال، جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با ۴ و ۶ درصد پودر عصاره استخوان غلظت فسفر خون بیشتری در مقایسه با جوجه‌های دریافت‌کننده ۲ درصد پودر عصاره استخوان داشتند ($P<0/05$).

در آزمایش اول، غلظت مواد معدنی موجود در خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی (کلسیم، فسفر، روی، منگنز و آهن) تحت تاثیر مصرف مکمل پروتئینی مورد آزمایش قرار نگرفت ($P>0/05$). اما به لحاظ عددی مواد معدنی مورد ذکر در گروه‌های دریافت‌کننده پودر عصاره استخوان نسبت به گروه شاهد بیش‌تر بود. بدین صورت که غلظت کلسیم استخوان بصورت خطی معنی‌دار بود ($P<0/05$)، در حالی که غلظت فسفر نزدیک به معنی‌داری بود ($P=0/067$) و غلظت آهن نیز نزدیک به معنی‌داری بود ($P=0/079$).

جدول ۳. اثر افزودن پودر عصاره استخوان گاو به جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، متابولیت‌های سرم خون و استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در آزمایش اول (۱۰-۱ روزگی)

Table 3. The effect of different levels of bovine bone broth powder (protein supplement) on growth performance, blood serum metabolites and tibia attributes of broiler chicks in first trial (1-10 d)								
متغیرها Variables	پودر عصارهٔ استخوان در جیره (%) Bone broth powder in diet (%)				SEM ²	P-value ³	مقایسات رگرسیون Regression contrasts	
	0	2	4	6			خطی Linear	درجه دوم Quadratic
	عملکرد رشد Growth performance							
افزایش وزن (روز/پرنده/گرم) Weight gain (g/bird/d)	14.50	16.02	15.33	14.73	0.558	0.248	0.082	0.07
مصرف خوراک (روز/پرنده/گرم) feed intake (g/bird/d)	24.06 ^c	25.67 ^{ab}	26.92 ^a	24.67 ^b	0.194	0.001	0.063	0.720
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	1.800	1.628	1.627	1.681	0.053	0.107	0.021	0.043
متابولیت‌های سرم خون Blood serum metabolites								

کلسترول کل (میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	165.00	168.01	173.21	183.05	13.78	0.811	0.367	0.443
لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی گرم بر دسی لیتر) HDL-c (mg/dl)	64.11	72.03	68.12	66.38	3.233	0.803	0.553	0.734
لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی گرم بر دسی لیتر) LDL-c (mg/dl)	65.15	67.24	65.11	69.47	6.467	0.844	0.566	0.576
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر) Calcium (mg/dl)	9.48	10.00	10.01	10.50	0.267	0.118	0.153	0.431
فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر) Phosphorus (mg/dl)	5.98 ^a	5.58 ^b	6.37 ^a	6.67 ^a	0.251	0.034	0.741	0.860
شاخص‌های استخوان درشت نی Tibia attributes								
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.94	0.94	0.76	1.28	0.154	0.157	0.038	0.083
فسفر (درصد) Phosphorus (%)	0.42	0.51	0.54	0.67	0.084	0.238	0.067	0.133
روی (میلی گرم بر کیلوگرم) Zinc (ppm)	8.29	9.35	12.74	11.44	1.838	0.142	0.301	0.213
منگنز (میلی گرم بر کیلوگرم) Manganese (ppm)	0.19	0.24	0.23	0.24	0.034	0.665	0.954	0.789
آهن (میلی گرم بر کیلوگرم) Iron (ppm)	5.57	8.44	6.73	8.56	1.344	0.341	0.079	0.073

2- SEM: standard error of means; 3- the level of significant probability; ^{a,b}: Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

نتایج ارائه شده در جدول (۴) نشان می‌دهد در دوره ۲۴-۱۱ روزگی شاخص‌های اندازه‌گیری در مورد عملکرد رشد تحت تاثیر مصرف پودر عصاره استخوان گاو قرار گرفتند ($P<0.05$). بیشترین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمارهای حاوی ۲ و ۴ درصد پودر عصاره استخوان بود. این در حالی است که بالاترین سطح مصرف ۶ درصد پودر عصاره استخوان منجر به کاهش معنی‌دار افزایش وزن روزانه پرنده در ۲۴-۱۱ روزگی شد ($P<0.05$). همچنین میانگین تفاوت تیمارها بر پایه رگرسیون خطی ($P=0.001$) و درجه دوم ($P=0.001$) معنی‌دار بود مصرف خوراک توسط جوجه‌هایی گوشتی که ۴ درصد پودر عصاره استخوان در جیره دریافت کرده بودند نسبت به تیمار شاهد به طور خطی ($P=0.001$) و درجه دوم ($P=0.003$) معنی‌دار و بیشتر بود. علاوه بر این دو تیمار دیگر که حاوی ۲ و ۶ درصد پودر عصاره استخوان بودند نیز نسبت تیمار شاهد بیشتر بود اما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. ضریب تبدیل غذایی طی آزمایش دوم، در دو تیمار حاوی ۲ و ۴ درصد پودر عصاره استخوان گاو به‌طور معنی‌دار بهبود یافت، اما بیشترین مقدار ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمار چهارم (۶ درصد پودر عصاره استخوان) بود ($P<0.05$).

در ادامه نتایج جدول (۴) به غیر از غلظت فسفر خون همانند آزمایش اول، غلظت سرمی کلسترول کل، HDL-c، LDL-c و کلسیم تحت تاثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0.05$). افزایش معنی‌دار فسفر سرم با افزایش سطح مصرف

پودر عصاره استخوان در آزمایش دوم نیز مشاهده شد و تیمار حاوی ۶ درصد پودر عصاره استخوان بیشترین غلظت سرمی فسفر را در جوجه‌های گوشتی منجر شد. عناصر موجود در استخوان درشت نی بغیر از عنصر آهن تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0.05$). در طی ۱۱-۲۴ روزگی غلظت آهن در خاکستر استخوان درشت نی تحت تأثیر مصرف پودر عصاره استخوان قرار گرفت ($P<0.05$) و تیمارهای حاوی پودر عصاره استخوان غلظت آهن بیشتری را به خود اختصاص دادند.

جدول ۴. اثر افزودن پودر عصاره استخوان گاو به جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، متابولیت‌های سرم خون و استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در آزمایش دوم (۱۱-۲۴ روزگی)

Table 4. The effect of different levels of bovine bone broth powder (protein supplement) on growth performance, blood serum metabolites and tibia attributes of broiler chicks in second trial (11-24 d)

متغیرها Variables	پودر عصارهٔ استخوان در جیره (%) Bone broth powder in diet (%)				SEM ²	P- value ³	مقایسات رگرسیون Regression contrasts	
	0	2	4	6			خطی Linear	درجه دوم Quadratic
عملکرد رشد Growth performance								
افزایش وزن (روز/پرنده/گرم) Weight gain (g/bird/d)	50.79 ^b	52.61 ^a	50.03 ^a	44.84 ^b	0.916	0.001	0.001	0.001
مصرف خوراک (روز/پرنده/گرم) feed intake (g/bird/d)	70.51 ^b	74.33 ^{ab}	76.07 ^a	72.77 ^{ab}	1.089	0.012	0.001	0.003
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	1.578 ^b	1.493 ^c	1.483 ^c	1.645 ^a	0.036	0.027	0.072	0.164
متابولیت‌های سرم خون Blood serum metabolites								
کلسترول کل (میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	169.17	172.03	175.08	178.23	9.866	0.856	0.443	0.391
لیپوپروتئین با دانسیتهٔ بالا (میلی گرم بر دسی لیتر) HDL-c (mg/dl)	65.04	69.12	69.24	64.11	4.438	0.482	0.881	0.631
لیپوپروتئین با دانسیتهٔ پایین (میلی گرم بر دسی لیتر) LDL-c (mg/dl)	62.33	62.83	65.50	69.50	5.227	0.758	0.979	0.735
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر) Calcium (mg/dl)	9.91	10.22	10.95	10.27	0.283	0.796	0.537	0.458
فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر) Phosphorus (mg/dl)	5.95 ^c	6.30 ^b	6.28 ^b	6.72 ^a	0.265	0.001	0.006	0.061
شاخص‌های استخوان درشت نی Tibia attributes								
کلسیم (درصد) Calcium (%)	2.84	3.84	3.85	3.20	0.443	0.467	0.857	0.904
فسفر (درصد) Phosphorus (%)	1.48	1.61	1.98	1.71	0.232	0.502	0.801	0.879
روی (میلی گرم بر کیلوگرم)	32.01	33.05	46.00	37.11	4.873	0.178	0.418	0.380

Zinc (ppm)								
منگنز (میلی گرم بر کیلوگرم)	0.44	0.62	0.48	0.63	0.86	0.284	0.673	0.814
Manganese (ppm)								
آهن (میلی گرم بر کیلوگرم)	21.00 ^b	25.02 ^a	27.14 ^a	26.25 ^a	3.471	0.008	0.050	0.031
Iron (ppm)								

2- SEM: standard error of means; 3- the level of significant probability; ^{a,b}: Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

نتایج گزارش شده در جدول شماره (۵)، نشان داد که افزایش وزن روزانه مربوط به جوجه‌های گوشتی در دوره پایانی (آزمایش سوم) تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت ($P<0.05$). جوجه‌های دریافت‌کننده ۲ درصد پودر عصاره استخوان گاو نسبت به جوجه‌های دریافت‌کننده جیره پایه و جیره حاوی ۶ درصد پودر عصاره استخوان گاو افزایش وزن بیشتری داشتند. در دوره پایانی، برخلاف دو دوره نخست آزمایش (آغازین و رشد) مصرف خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت ($P>0.05$). بهترین ضریب تبدیل غذایی مربوط به تیمارهای دوم و سوم که به ترتیب حاوی ۲ و ۴ درصد پودر عصاره استخوان بودند (۱/۴۲۷ و ۱/۴۱۹ درصد)، مشاهده شد و تفاوت تیمارها از نظر روابط خطی ($P=0.002$) و درجه دوم ($P=0.002$) معنی‌دار بود. غلظت لیپوپروتئین با چگالی پایین در جوجه‌های گوشتی تحت تیمارهای ۴ و ۶ درصد پودر عصاره استخوان نسبت به تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<0.05$). سایر متابولیت‌های اندازه‌گیری شده مانند کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی بالا تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0.05$). مواد معدنی سرم و خاکستر استخوان درشت نی تحت تأثیر افزودن مکمل پروتئینی قرار نگرفتند ($P>0.05$).

جدول ۵. اثر افزودن پودر عصاره استخوان گاو به جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد، متابولیت‌های سرم خون و استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی در آزمایش سوم (۲۵-۴۲ روزگی)

Table 5. The effect of different levels of bovine bone broth powder (protein supplement) on growth performance, blood serum metabolites and tibia attributes of broiler chicks in third trial (25-42 d)

متغیرها Variables	پودر عصاره استخوان در جیره (%) Bone broth powder in diet (%)				SEM ²	P-value ³	مقایسات رگرسیون Regression contrasts	
	0	2	4	6			خطی Linear	درجه دوم Quadratic
عملکرد رشد Growth performance								
افزایش وزن (روز/پرنده/گرم) Weight gain(g/bird/d)	78.19 ^b	86.14 ^a	84.54 ^{ab}	79.85 ^b	2.428	0.019	0.005	0.002
مصرف خوراک (روز/پرنده/گرم) feed intake (g/bird/d)	120.87	122.31	120.74	115.77	1.898	0.079	0.900	0.372
ضریب تبدیل غذایی Feed conversion ratio	1.572 ^b	1.427 ^c	1.419 ^c	1.614 ^a	0.039	0.025	0.002	0.002
متابولیت‌های سرم خون Blood serum metabolites								
کلسترول کل (میلی گرم بر دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	140.83	149.17	147.00	154.33	11.58	0.115	0.458	0.667
لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی گرم بر دسی لیتر)	64.33	70.83	68.00	65.67	5.500	0.866	0.418	0.420

HDL-c (mg/dl)								
لیپوپروتئین با دانسیته پایین								
(میلی گرم بر دسی لیتر)	55.33 ^c	56.50 ^{bc}	59.67 ^b	60.50 ^a	5.280	0.044	0.439	0.718
LDL-c (mg/dl)								
کلسیم (میلی گرم بر دسی لیتر)	10.00	10.30	10.15	10.22	0.294	0.557	0.337	0.362
Calcium (mg/dl)								
فسفر (میلی گرم بر دسی لیتر)	6.43	6.75	6.88	6.43	0.266	0.545	0.164	0.156
Phosphorus (mg/dl)								
شاخص‌های استخوان درشت نی								
Tibia attributes								
کلسیم (درصد)	4.05	5.06	5.11	5.23	0.368	0.911	0.786	0.670
Calcium (%)								
فسفر (درصد)	2.42	2.65	2.71	2.73	0.188	0.910	0.924	0.801
Phosphorus (%)								
روی (میلی گرم بر کیلوگرم)	42.11	45.23	42.98	47.51	3.550	0.469	0.114	0.137
Zinc (ppm)								
منگنز (میلی گرم بر کیلوگرم)	0.81	0.86	0.95	1.05	0.107	0.425	0.107	0.126
Manganese (ppm)								
آهن (میلی گرم بر کیلوگرم)	43.37	44.97	47.09	45.22	4.001	0.923	0.728	0.663
Iron (ppm)								

۲- SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ ۳- سطح احتمال معنی‌داری؛ ^{a,c} میانگین‌های هر ردیف با حروف غیر مشترک دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).
 2- SEM: standard error of means; 3- the level of significant probability; ^{a,b}: Means within same row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

بحث

با توجه به نتایج مطالعه‌ی حاضر، استفاده از ۲ درصد مکمل پروتئینی (پودر عصاره استخوان) در جیره باعث افزایش معنی‌دار اضافه وزن روزانه در دوره‌های رشد و پیاپی نسبت به تیمار شاهد شد ولی سطوح بالاتر باعث کاهش این شاخص گردید. مصرف خوراک در گروه دریافت کننده چهار درصد پودر عصاره، در دوره‌های آغازین و رشد به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ولی دو گروه دیگر تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نداشتند. ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های رشد و پیاپی در گروه‌های دریافت کننده دو و چهار درصد پودر عصاره به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد ولی در گروه شش درصد بیشتر از تیمار شاهد بود. با افزایش غلظت مکمل پروتئینی از دو درصد جیره در دوره ۱۱ الی ۲۴ روزگی و ۲۵ الی ۴۲ روزگی، افزایش وزن روزانه جوجه‌های گوشتی روند کاهشی داشت ($P < 0.05$). این گونه استنباط می‌شود که با کاهش تدریجی غلظت کنجاله سویا در جیره جوجه‌های گوشتی و با افزایش تدریجی جایگزینی پودر عصاره استخوان، عملکرد جوجه‌های گوشتی کاهش یافت که نشان می‌دهد جیره‌های آزمایشی حاوی پودر عصاره استخوان اثرات مخرب عمده‌ای بر بهره‌وری جوجه‌های گوشتی داشتند. یکی از دلایل این مطلب احتمالاً بخاطر خصوصیات فیزیکی عصاره استخوان و فرم چسبندگی آن می‌باشد، به ویژه زمانی که مقدار گنجاندن آن خیلی زیاد بود. کاهش اضافه وزن روزانه و افزایش ضریب تبدیل غذایی با کاهش مصرف خوراک همراه بود. رادرفورد و همکاران (*Rutherford et al., 2015*) گزارش کردند که گنجاندن ژلاتین حیوانی به‌عنوان منبع پروتئین به جای کنجاله سویا در جیره غذایی موش باعث کاهش مصرف خوراک شد. زیرا خوش‌خوراکی بسیار پایینی بعلت چسبندگی و ژلاتینه شدن ایجاد می‌کند مطالعاتی

که اثرات پودر عصاره استخوان را به عنوان منبع پروتئین در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در نظر گرفتند، در منابع علمی کمیاب می‌باشد. بنابراین، نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر را می‌توان با مطالعه‌ی قبلی در مورد جایگزینی سطوح بالای کنجاله سویا با ژلاتین گاوی، که نشان‌دهنده کاهش رشد در جوجه‌های گوشتی بود، تأیید کرد (Khalaji et al., 2016). سطح جایگزینی از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا جایگزینی جزئی تا ۲۰ درصد از پودر ماهی با ژلاتین گاوی در جیره‌ها هیچ اثر نامطلوبی برای جوجه‌های گوشتی نشان نداد (Khalaji et al., 2016؛ Espe et al., 2006)، در حالی که جایگزینی ۱۰۰ درصد پودر ماهی با ژلاتین، عملکرد رشد را کاهش داد (Espe et al., 2006).

اثر مکمل پروتئینی بر میانگین غلظت کلسترول، کلسیم و HDL-C سرم جوجه‌های گوشتی در کل دوره‌های پرورشی معنی‌دار نبود ($P < 0.05$). اثر مکمل پروتئینی بر میانگین غلظت LDL-C خون در دوره پایانی معنی‌دار بود ($P < 0.044$)؛ به طوری که غلظت LDL-C خون در گروه‌های چهار و شش درصد پودر عصاره در دوره پایانی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود. غلظت فسفر سرم خون جوجه‌های گوشتی دریافت‌کننده پودر عصاره استخوان در دوره‌های آغازین و رشد معنی‌دار ($P < 0.05$) و در دوره پایانی معنی‌دار نشد ($P > 0.05$). غلظت فسفر سرم خون جوجه‌ها در دوره رشد در گروه‌های دریافت‌کننده پودر عصاره استخوان به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود ($P < 0.01$). مطالعات انجام شده در مورد تأثیر مکمل پروتئینی پودر عصاره استخوان بر انسان که به عنوان یک منبع پروتئینی حاوی ۸۰۰ گرم در کیلوگرم پروتئین خام است، به دلیل بهبود و تقویت سیستم ایمنی بسیاری از نشانگرهای سلامتی سرم خون مانند کلسترول و LDL-C به شدت کاهش یافت (Alcock et al., 2019). هر چند در مطالعه حاضر میزان HDL-C با افزایش سطح مصرف پودر عصاره استخوان کاهش یافتند، بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده این گونه بیان می‌گردد که با افزایش سطح مصرف مکمل پروتئینی، برخی فراسنجه‌های خون از قبیل LDL-C افزایش یابد و این به دلیل مقادیر بسیار بالای چربی آن می‌باشد. در مطالعه‌ای از یک منبع پروتئینی غیر متعارف مانند پوست گاوی در جیره خرگوش‌های انگورا استفاده شد و عنوان کردند که با جایگزینی ۴ درصد از منبع پروتئینی به جای کنجاله سویا منجر به افزایش لیپوپروتئین با دانسیته پایین شد که در راستای مطالعه حاضر بود (Nasr and Taha, 2024). چربی‌های موجود در گردش خون طیور شامل چربی‌های خنثی (تری‌آسیل گلیسرول‌ها)، فسفولیپیدها، استرهای کلسترول، اسیدهای چرب آزاد و ترکیبات محلول در چربی از قبیل ویتامین‌های A، D، K و E می‌باشد (Lee et al., 2017). میزان کلسترول خون پرندگان تحت تأثیر سن، توارث، تغذیه و بیماری‌های مختلف است (Utami et al., 2018). میزان طبیعی کلسترول خون اغلب پرندگان در حدود ۵۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر است (Belcher et al., 2014) در این تحقیق نیز میزان کلسترول خون در این دامنه بود و بیشترین مقدار آن از لحاظ عددی در جیره غذایی دارای ۶ درصد پودر عصاره استخوان و کمترین آن در گروه شاهد مشاهده شد. با توجه به اینکه چربی موجود در پودر عصاره استخوان دارای میزانی از چربی‌های غیر اشباع است، به نظر می‌رسد بالا بودن میزان کلسترول در جیره غذایی دارای ۶ درصد پودر عصاره استخوان به قابلیت هضم و جذب چربی‌های غیر اشباع مربوط باشد. با افزایش سطح مصرف مکمل پروتئینی مقدار فسفر خون به صورت خطی روند افزایشی نشان داد، که شاید به غلظت قابل توجه فسفر موجود در عصاره استخوان مرتبط دانست. زمانی که استخوان جوشانده می‌شود بسیاری از مواد مغذی مانند کلسیم، منیزیم، فسفر و سیلیکون آزاد می‌شوند (Ozturk and Kerimoglu, 2022). به نظر می‌رسد با افزایش سطح عصاره استخوان برداشت کلسیم و فسفر از جیره غذایی و قابلیت دسترسی آن برای ارگان هدف (استخوان و اسکلت) افزایش می‌یابد (Aykin-Dinger et al., 2021). همان‌طور که در مطالعه حاضر نیز با استفاده بیشتر عصاره استخوان در جیره مقدار فسفر سرم جوجه‌های گوشتی نسبت به جیره پایه افزایش داشت.

تأثیر سطح پودر عصاره استخوان بر مواد معدنی موجود در استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی نشان داد که در تمام دوره‌های پرورشی هیچ یک از مواد معدنی مورد اندازه‌گیری شده از خاکستر استخوان درشت نی جوجه‌های گوشتی به غیر از عنصر آهن در دوره ۲۴-۱۱ روزگی معنی‌دار نشد ($P > 0.05$). فراوانی غلظت مواد معدنی موجود در پودر عصاره استخوان می‌تواند غلظت مواد معدنی خاکستر استخوان درشت نی را تحت تأثیر قرار دهد و نتایج مطالعه حاضر نشان داد که به لحاظ عددی با افزایش سطح مصرف مکمل پروتئینی مورد آزمایش ترکیب مواد معدنی استخوان درشت نی نیز بهبود یافت. استخوان درشت نی (تی‌بیا) در پرندگان یکی از استخوان‌های مهم حرکتی پرندگان می‌باشد (Han et al., 2015). مصرف مکمل‌های پروتئینی با منشا دامی مخصوصاً مواد ژلاتینی به دلیل داشتن ترکیباتی مانند گلوکز آمین و کندروتین سولفات موجب افزایش مواد معدنی استخوان درشت نی در پرندگان می‌شود (Gattazzo et al., 2018). در مطالعه‌ی که روی موش‌های نر انجام شد با گنجاندن عصاره گوشت در تغذیه روزانه آن‌ها مقدار کلسیم استخوان درشت نی افزایش یافت (Klevay and Wildman, 2002). در مطالعه حاضر نیز افزایش مواد معدنی با بالا بردن سطح مصرف عصاره استخوان در جیره جوجه‌های گوشتی به لحاظ عددی مشهود بود. در مطالعه دیگر نشان داده شد که مصرف ژلاتین گاوی مقدار کلسیم موجود در گردش خون را بالا می‌برد که نشان می‌دهد استخوان در حال ساخت می‌باشد (Han et al., 2015). در زمان محدودیت پروتئین در جیره پرندگان، وزن استخوان کاهش می‌یابد این در حالی است که با گنجاندن مکمل ژلاتینی در تغذیه خرگوش‌های انگورا، میزان مواد معدنی و چگالی استخوان تی‌بیا بیشتر شد (Zhang et al., 2016). مشخص شده است که اغلب بیماری‌های تحلیل برنده سیستم اسکلتی ماهیچه‌ای با دریافت مکمل‌های پروتئینی مانند عصاره استخوان و ژلاتین گاوی بهبود یافتند (Saenmuang et al., 2020). سلامت و استحکام استخوان درشت نی، نقش بسیار مهمی در بازده اقتصادی و سود استحصالی از گله‌های طیور دارد. استخوان درشت نی یا تی‌بیا در پرندگان مسئول تحمل قسمت عمده وزن بدن پرنده می‌باشد (Han et al., 2015). بنابراین در جیره‌های روزانه جوجه‌های گوشتی گنجاندن مکمل‌های پروتئینی که حاوی ترکیباتی مانند کلاژن و نیز گلوکز آمین و کندروتین سولفات می‌تواند سلامت استخوان درشت نی را تضمین کند. لازم به ذکر است، تا جایی که نویسندگان اطلاع دارند روش پیشنهادی و بررسی پودر عصاره استخوان به عنوان خوراک پروتئینی در تغذیه جوجه‌های گوشتی، اولین کار تحقیقاتی است که در این مورد انجام می‌شود و نیاز به پژوهش‌های بیشتر در این باره وجود دارد. دلیل مستقل بودن آزمایشات و استفاده کوتاه مدت از پودر عصاره استخوان در جیره جوجه‌ها این بود که تصور می‌شد استفاده طولانی مدت از آن ممکن است اثرات منفی بر سلامت جوجه‌ها داشته باشد. پیشنهاد می‌شود در آزمایشات بعدی، پودر عصاره استخوان از سن یک الی کشتار در جیره جوجه‌های گوشتی مورد استفاده و بررسی قرار گیرد.

نتیجه گیری

استفاده از پودر عصاره استخوان گاو تا سطح ۴ درصد در جیره جوجه‌های گوشتی بر عملکرد آنها تأثیر مثبت داشت و می‌تواند باعث افزایش غلظت مواد معدنی در سرم خون و استخوان درشت نی شود. با این حال، افزایش سطح پودر عصاره استخوان به ۶ درصد جیره باعث کاهش معنی‌دار مصرف خوراک و رشد جوجه‌ها شد. همچنین، مصرف ۶ درصد از این ماده در جیره، غلظت کلسترول و LDL-C را در خون جوجه‌ها افزایش داد.

REFERENCES

1. Adeola, O., Anwar, M. N., Abdollahi, M. R., & Ravindran, V. (2018). Age-related energy values of meat and bone meal for broiler chickens. *Poultry science*, 97(7), 2516-2524. <https://doi.org/10.3382/ps/pey100>

2. Alcock, R. D., Shaw, G. C., & Burke, L. M. (2019). Bone broth unlikely to provide reliable concentrations of collagen precursors compared with supplemental sources of collagen used in collagen research. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 29(3), 265-272. <http://doi.org/10.1123/ijsnem.2018-0139>
3. Alipal, J., Pu'Ad, N. M., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H. ... & Abdullah, H. Z. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*, 42, 240-250. <http://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.922>
4. American Society for Testing and Materials (ASTM). (2004). *Annual book of American society for testing and materials standards*. Water and environmental technology. Standard guide for preparation of biological samples for inorganic chemical analysis. ASTM D4638-03, 11-6.
5. Anoh, K. U., & Akpet, S. O. (2013). Growth response of broiler chickens fed diets containing blood meal with enzyme supplementation as a replacement for fish meal. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 4(4), 31-34. <http://doi.org/10.9790/2380-0443134>
6. Anwar, M. N., Ravindran, V., Morel, P. C. H., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2016). Measurement of true ileal calcium digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Poultry Science*, 95(1), 70-76. <http://doi.org/10.3382/ps/pev319>
7. AOAC International. (1995). *Official Methods of Analysis*. 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, VD.
8. Aykın-Dinçer, E., Özdemir, M., & Topuz, A. (2021). Quality characteristics of bone broth powder obtained through Refractance Window™ drying. *LWT*, 147, 111526. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111526>
9. Belcher, C., Heatley, J. J., Petzinger, C., Hoppes, S., Larner, C. D., Sheather, S. J., & Macfarlane, R. D. (2014). Evaluation of plasma cholesterol, triglyceride, and lipid density profiles in captive monk parakeets (*Myiopsitta monachus*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, 23(1), 71-78. <http://doi.org/10.1053/j.jepm.2013.11.017>
10. Beyranvand, F., Khalaji, S., Zamani, A., & Manafi, M. (2019). Effects of gelatin prepared from calf bones rich in phosphorus on broiler performance, bone characteristics and digestive enzymes activity. *British poultry science*, 60(1), 31-38. <http://doi.org/10.1080/00071668.2018.1535167>
11. Espe, M., Lemme, A., Petri, A., & El-Mowafi, A. (2006). Can Atlantic salmon (*Salmo salar*) grow on diets devoid of fish meal?. *Aquaculture*, 255(1-4), 255-262. <http://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.12.030>
12. Galkanda-Arachchige, H. S., Wilson, A. E., & Davis, D. A. (2020). Success of fishmeal replacement through poultry by-product meal in aquaculture feed formulations: a meta-analysis. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1624-1636. <http://doi.org/10.1111/raq.12401>
13. Gattazzo, F., De Maria, C., Rimessi, A., Dona, S., Braghetta, P., Pinton, P. ... & Bonaldo, P. (2018). Gelatin–genipin-based biomaterials for skeletal muscle tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 106(8), 2763-2777. <http://doi.org/10.1002/jbm.b.34057>
14. Han, J. C., Qu, H. X., Wang, J. G., Chen, G. H., Yan, Y. F., Zhang, J. L., ... & Cheng, Y. H. (2015). Comparison of the growth and mineralization of the femur, tibia, and metatarsus of broiler chicks. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 17(3), 333-340. <http://doi.org/10.1590/1516-635X1703333-340>

15. Hasni, M. S., Sahito, H. A., Memon, M. A., Sanjrani, M. I., Gopang, M. A., & Soomro, N. A. (2014). Effect of feeding various levels of feather meal as a replacement of fish meal on the growth of broiler. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 3(2), 505-511.
16. Iqbal, A., Qudoos, A. Q., Çetingül, İ. S., Shah, S. R. A., & Bayram, I. (2019). Insects as alternative feed materials for poultry nutrition. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 2(1), 30-37.
17. Khalaji, S., Manafi, M., Olfati, Z., Hedyati, M., & Veysi, A. (2016). Replacing soybean meal with gelatin extracted from cow skin and corn protein concentrate as a protein source in broiler diets. *Poultry Science*, 95(2), 287-297. <http://doi.org/10.3382/ps/pev330>
18. Klevay, L. M., & Wildman, R. E. (2002). Meat diets and fragile bones: inferences about osteoporosis. *Journal of trace elements in medicine and biology*, 16(3), 149-154. [https://doi.org/10.1016/S0946-672X\(02\)80017-7](https://doi.org/10.1016/S0946-672X(02)80017-7)
19. Lee, J. H., Lee, C. H., Oh, S. Y., Kwak, W. G., Oh, H. J., Yun, W. ... & Cho, J. H. (2017). Effect of bone boiling duration on bone extract supplement quality for broilers as to growth performance, leg bone length, and blood profile. *Korean Journal of Agricultural Science*, 44(1), 60-66.
20. Makkar, H., Heuzé, V., & Tran, G. (2022). Locusts and grasshoppers: nutritional value, harvesting and rearing for animal feed, and other applications. *CABI Reviews*, (2022). <http://doi.org/10.1079/cabireviews202217038>
21. Mutucumarana, R. K., Ravindran, V., Ravindran, G., & Cowieson, A. J. (2015). Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens. *Poultry Science*, 94(7), 1611-1618. <http://doi.org/10.3382/ps/pev132>
22. Nasr, A. I., & Taha, E. A. (2024). Rabbit skins and furs: Production, properties, and potentiality as raw materials for tanning and other industries. In *Veterinary Care of Farm Rabbits: A Complete Practice Guide to Rabbit Medicine and Production* (pp. 355-376). Cham: Springer International Publishing. http://doi.org/10.1007/978-3-031-44542-2_16
23. Nouri, K., Khalaji, S., Zamani, A., & Saki, A. (2020). Acid hydrolysis of gelatin extracted from cow skin: properties and potential for use as a source of small peptides and free amino acids for broiler chickens. *Animal Production Science*, 61(4), 399-411. <http://doi.org/10.1071/AN20411>
24. Ozturk, M. U., & Kerimoğlu, B. Ö. (2022). Characterization of industrial bone broths formulated with various meat and non-meat ingredients. *Gıda*, 47(6), 1092-1103. <http://doi.org/10.15237/gida.GD22074>
25. Ravindran, V., Hendriks, W. H., Camden, B. J., Thomas, D. V., Morel, P. C. H., & Butts, C. A. (2002). Amino acid digestibility of meat and bone meals for broiler chickens. *Australian Journal of Agricultural Research*, 53(11), 1257-1264. <http://doi.org/10.1071/AR02055>
26. Rutherford, S. M., Cui, J., Goroncy, A. K., & Moughan, P. J. (2015). Dietary protein structure affects endogenous ileal amino acids but not true ileal amino acid digestibility in growing male rats. *The Journal of Nutrition*, 145(2), 193-198. <http://doi.org/10.3945/jn.114.198283>
27. Saenmuang, S., Phothiset, S., & Chumnanka, C. (2020). Extraction and characterization of gelatin from black-bone chicken by-products. *Food Science and Biotechnology*, 29, 469-478. <http://doi.org/10.1007/s10068-019-00696-4>
28. SAS. 2014. SAS user's guide: Statistics. Version 9.4. SAS Institute Inc, Cary, NC.

29. Schøyen, H. F., Svihus, B., Storebakken, T., & Skrede, A. (2007). Bacterial protein meal produced on natural gas replacing soybean meal or fish meal in broiler chicken diets. *Archives of Animal Nutrition*, 61(4), 276-291. <http://doi.org/10.1080/17450390701431953>
30. Shakeri, M., Ahmadi, P., Ghorbannezhad, G., Nasirzadeh, A., Abolbashari, S., Sadati, S. M., & Salari, M. (2023a). Comorbidities and Mortality Risk in COVID-19 Infected Patients: A Cross-Sectional Study in North-Eastern Iran. *Türkiye Klinikleri. Tıp Bilimleri Dergisi*, 43(1), 29-39. <http://doi.org/10.5336/medsci.2022-91119>
31. Shakeri, M., Ghalibaf, A. A. M., Ghodsi-Moghadam, M., Ghorbannezhad, G., Ahmadi, S. P., Mashahiri, S., ... & Salari, M. (2023b). Clinical manifestations and associated mortality factors of COVID-19: a large population-based study in the northeast of Iran during 2020-2021. *Epidemiology and Health System Journal*, 10(1), 31-38. <http://doi.org/10.34172/ehsj.2023.05>
32. Tacon, A. G. (2023). Contribution of fish and seafood to global food and feed supply: An analysis of the FAO food balance sheet for 2019. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 31(2), 274-283. <http://doi.org/10.1080/23308249.2022.2124364>
33. Ulfa, M., & Apriliani, W. (2020, June). Physico-chemical characteristics of gelatin as green template for nanomaterial production. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2237, No. 1). AIP Publishing. <http://doi.org/10.1063/5.0006142>
34. Utami, M. M. D., Pantaya, D., & Agus, A. (2018). Addition of garlic extract in ration to reduce cholesterol level of broiler. In *Journal of physics: conference series* (Vol. 953, No. 1, p. 012124). IOP Publishing. <http://doi.org/10.1088/1742-6596/953/1/012124>
35. World Health Organization. (2023). *Report 2022: pesticide residues in food: Joint FAO* (No. CC4115/EN/1/03.23). Food and Agriculture Organization of the United Nations.
36. Zhang, J., Wang, H., Shi, J., Wang, Y., Lai, K., Yang, X. ... & Yang, G. (2016). Combination of simvastatin, calcium silicate/gypsum, and gelatin and bone regeneration in rabbit calvarial defects. *Scientific reports*, 6(1), 23422. <http://doi.org/10.1038/srep23422>