

## بررسی اثر مقایسه‌ای مکمل نانومولتی‌ویتامین، بر عملکرد، برخی فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی

احسان شیخ‌سامانی<sup>1</sup> - احمد حسن‌آبادی<sup>2\*</sup> - ابوالقاسم گلپان<sup>2</sup>

تاریخ دریافت: 1392/03/25

تاریخ پذیرش: 1392/10/23

### چکیده

این مطالعه جهت بررسی اثر مقایسه‌ای مکمل نانومولتی‌ویتامین، بر عملکرد، برخی فراسنجه‌های خونی و پاسخ ایمنی جوجه‌های گوشتی سویه راس 308، در قالب طرح کاملاً تصادفی با 10 تیمار، 5 تکرار و 12 قطعه در هر تکرار، در سن 1 تا 45 روزگی انجام شد. تیمارهای 1، 2 و 3 به ترتیب شامل جیره پایه + مخلوط نانومولتی‌ویتامین در سطح 50، 100 و 150 درصد توصیه کارخانه سازنده؛ تیمارهای 4، 5 و 6 به ترتیب تشکیل شده از جیره پایه + پیش مخلوط ویتامینی متداول، دارای سطوح ویتامینی معادل با تیمار یک، دو و سه؛ تیمارهای 7، 8 و 9 به ترتیب تشکیل شده از جیره پایه + پیش مخلوط ویتامینی متداول، معادل با 50، 100 و 150 درصد سطوح ویتامینی توصیه شده توسط کاتالوگ سویه راس و تیمار 10 تشکیل شده از جیره پایه فاقد پیش مخلوط ویتامینی بودند. نتایج نشان داد نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری در سن 10 روزگی میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه تیمارهای 3 و 2 افزایش و ضریب تبدیل خوراک تیمار 3 کاهش یافت اما در سن 24 و 45 روزگی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دارای مکمل ویتامینی مشاهده نشد. در تست SRBC اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد. در تست CBH در 24 ساعت پس از تزریق، پاسخ ایمنی سلولی تیمار 10، نسبت به تیمار 3، به طور معنی‌داری کاهش یافت و تیمار 10 سبب کاهش معنی‌دار سطح تری‌گلیسرید سرم خون و وزن نسبی سینه و افزایش معنی‌دار وزن نسبی بال و طول نسبی روده کوچک گردید.

**واژه‌های کلیدی:** پاسخ ایمنی، جوجه‌های گوشتی، عملکرد، فراسنجه‌های خونی، نانومولتی‌ویتامین.

### مقدمه

ویتامینی زیست‌فراهمی بالاتری را نشان می‌دهند (17). یکی از ویژگی‌های تعیین‌کننده‌ای که ذرات نانو را از لحاظ فنی مورد توجه قرار داده است، نسبت سطح به حجم آن‌ها است. این نسبت با کاهش قطر ذرات افزایش می‌یابد. ذرات نانو از چند تا چندین هزار اتم تشکیل شده‌اند. این بدان معنی است که بخش قابل توجهی از اتم‌ها در سطح ذرات قرار می‌گیرند. اگر یک ذره با قطر ده نانومتر، از سی هزار اتم تشکیل شده باشد، بیست درصد از این اتم‌ها در سطح آن ذره قرار دارند. در ذراتی با قطر پنج نانومتر این شاخص به چهل درصد از حدود چهار هزار اتم تشکیل دهنده آن ذره افزایش می‌یابد و در قطر یک نانومتر تمام اطلاعات مربوط به 30 اتم تشکیل دهنده ذره، در سطح آن قرار دارند. سطح اتم‌ها به صورت غیراشباع می‌باشند که مسئول واکنش‌پذیری بالاتر سطح ذرات نسبت به درون ذرات می‌باشند و واکنش‌پذیری بالا، باعث جذب بهتر و افزایش اثر کاتالیزوری آن‌ها می‌شود (2). یکی از ابعاد زیست‌فراهمی بالا این است که برای مثال ذرات نانو ویتامین‌ها می‌توانند در دوزهای کمتری مصرف شده و از سوئی ویتامین‌های جذب نشده عبوری از دستگاه گوارش را کاهش دهند (2). بیشتر ویتامین‌ها و مواد دیگری که در آب نامحلول هستند

در واحدهای پرورش طیور، 75-70 درصد از هزینه‌های پرورش را خوراک تشکیل می‌دهد که از این مقدار، ویتامین‌ها 0/08 درصد از وزن جیره و دو درصد از هزینه خوراک را در برمی‌گیرند؛ اما به دلیل نقش بسیار مهم در اعمال متابولیسمی بدن، نیازمند توجه ویژه‌ای در جیره‌نویسی طیور می‌باشد (4). ویتامین‌ها به عنوان گروهی از ترکیبات آلی پیچیده، به مقدار اندک جهت انجام متابولیسم طبیعی بدن، مورد نیاز هستند (7). این مواد در طبیعت توسط میکروارگانیسم‌ها و گیاهان ساخته می‌شوند و بعضی از آن‌ها نیز توسط بعضی از جانداران تکامل یافته تولید می‌شوند (10). تحقیقات نشان داده است که ویتامین‌های تشکیل شده از ذرات کوچکتر نسبت به ویتامین‌های با ذرات درشت‌تر، موثرتر هستند و به عنوان مکمل‌های

1- دانشجوی دکتری تخصصی تغذیه طیور دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

2- استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

(\* - نویسنده مسئول: (Email: hassanabadi@um.ac.ir)

درجه سانتیگراد، هر هفته 3 درجه کاهش یافت. در این آزمایش تیمارهای آزمایشی به قرار زیر طراحی شدند: ابتدا جیره پایه که فاقد مکمل ویتامینی بود با سه سطح 50، 100 و 150 درصد سطوح توصیه شده کارخانه سازنده محلول نانومولتی‌ویتامین مخلوط گردید تا جیره غذایی تیمارهای نانومولتی‌ویتامین به ترتیب با اضافه کردن 0/5، 1 و 1/5 لیتر محلول نانو مولتی ویتامین در هر تن دان تهیه گردد.

جهت مقایسه دقیق تاثیر نانوویتامین‌ها و ویتامین‌های متداول، سه تیمار بعدی با مخلوط کردن جیره پایه با سطوح ویتامینی معادل با 50، 100 و 150 درصد سطوح توصیه شده توسط کارخانه سازنده نانومولتی‌ویتامین با استفاده از ویتامین‌های متداول تجاری تهیه گردید و به ترتیب از 1/25، 2/5 و 3/75 کیلوگرم پیش مخلوط ویتامینی معادل با سطوح ویتامینی نانومولتی‌ویتامین، در هر تن دان از جیره‌های غذایی سه تیمار آزمایشی بعدی استفاده گردید.

سپس سطوح ویتامینی توصیه شده سویه راس 308 (13) به عنوان کنترل مثبت مد نظر قرار گرفت و جیره پایه با سه سطح 50، 100 و 150 درصد سطوح ویتامینی توصیه شده سویه راس، مخلوط گردید تا جیره غذایی سه تیمار بعدی به ترتیب با مخلوط کردن 1/25، 2/5 و 3/75 کیلوگرم پیش مخلوط ویتامینی در هر تن دان آماده گردد. یک جیره پایه بدون هیچگونه مکمل ویتامینی نیز تهیه گردید و به عنوان تیمار کنترل منفی مورد استفاده قرار گرفت.

نانومولتی‌ویتامین مورد استفاده در این آزمایش از شرکت KDN BIO TECH کشور چین خریداری شد. ذرات ویتامین‌های مورد استفاده در این محلول ابعادی از 20 تا 400 نانومتر داشتند. این محلول طبق توصیه شرکت سازنده جهت استفاده در جیره یا آب آشامیدنی ساخته شده است. سطوح ویتامین‌های نانومولتی‌ویتامین، از اعداد درج شده بر روی بطری محصول که به تایید شرکت سازنده رسید، برداشت شد که در جدول 2 ارائه شده است. پیش مخلوط ویتامینی دارای سطوح ویتامینی معادل با سطوح ویتامینی نانومولتی‌ویتامین و پیش مخلوط ویتامینی توصیه شده سویه راس 308 (13) با استفاده از ویتامین‌های خالص تجاری ساخت شرکت لوهمن کشور آلمان (Lohman Animal Health) ساخته شدند که ترکیب ویتامینی این پیش مخلوط‌ها در جدول 2 ارائه شده است. قابل به ذکر است که در هنگام آماده سازی جیره، به هر سه نوع مکمل‌های ویتامینی، به ازای هر تن دان، 400 گرم کولین کلراید 60% اضافه گردید و پیش مخلوط‌ها با استفاده از رقیق کننده به وزن 2/5 کیلوگرم رسانده شدند. همچنین به منظور یکسان سازی جیره‌های آزمایشی به پیش مخلوط ویتامینی سویه راس نیز، 8 گرم ویتامین C به ازای هر 2/5 کیلوگرم پیش مخلوط افزوده شد. مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی هر پن در سن 10، 24 و 45 روزگی اندازه‌گیری شدند.

وقتی به عنوان نانو ذرات فرموله می‌شوند، می‌توانند به راحتی حتی با آب سرد هم مخلوط شوند و زیست‌فراهمی آن‌ها افزایش یابد (12). همچنین افزایش زیست‌فراهمی موادی که به شکل نانوذرات در آمده‌اند باعث می‌شود تا این مواد به قسمت‌هایی از بدن که نسبت به مواد ماکرو غیر قابل نفوذ هستند، بتوانند نفوذ کنند (3 و 14). در تحقیقی که توسط ژانگ و همکاران (18) بر روی جوجه‌های گوشتی صورت گرفت جهت تامین ویتامین‌های جیره از محلول نانومولتی ویتامین استفاده شد که نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که جیره‌های دارای نانومولتی‌ویتامین در مقایسه با جیره فاقد ویتامین علاوه بر بهبود عملکرد می‌تواند موجب بهبود پاسخ سیستم ایمنی نیز بشود. ویتامین‌ها یکی از اجزای اساسی جیره غذایی طیور می‌باشند و در تغذیه جوجه‌های گوشتی از اهمیت بالایی برخوردارند (8)، با توجه به اینکه نانوویتامین‌ها دارای زیست‌فراهمی و قیمت تمام شده بالاتری نسبت به ویتامین‌های متداول مورد استفاده در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی می‌باشند (2)، برای پاسخ به این سؤال که آیا زیست‌فراهمی بالاتر نانوویتامین‌ها، می‌تواند تغییری در عملکرد، فراسنجه‌های خونی و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی حاصل نماید و همچنین به علت نوظهور بودن استفاده از فناوری نانو در تغذیه طیور (2) و محدود بودن تحقیقات صورت گرفته در خصوص تاثیر استفاده از نانوویتامین‌ها در جیره غذایی جوجه‌های گوشتی، این آزمایش به منظور بررسی مقایسه‌ای اثر مکمل نانومولتی‌ویتامین و مکمل‌های ویتامینی متداول بر عملکرد، فراسنجه‌های خونی و پاسخ سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی انجام شد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با 600 قطعه جوجه گوشتی در یک‌روزه (سویه راس 308) با 10 تیمار، 5 تکرار و 12 پرند در هر تکرار انجام گرفت. جیره‌های مورد آزمایش به صورت جیره آغازین (10-1 روزگی)، جیره رشد (24-11 روزگی) و جیره پایانی (45-25 روزگی) تهیه و طبق توصیه سویه راس 308 (13) آماده شدند. ترکیب اقلام خوراکی مورد استفاده براساس جداول NRC (11) بدست آمد. محاسبه جیره با استفاده از نرم‌افزار UFFDA انجام شد. جدول 1 ترکیب جیره آزمایشی مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد. تمامی جیره‌ها بصورت آردی در دسترس جوجه‌ها قرار گرفتند. جوجه‌ها در تمام مدت انجام آزمایش در جایگاه‌های بستری (پن)، به ابعاد 1×1/2 متر نگهداری شدند. آب و خوراک در تمام مدت آزمایش آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار داده شدند. نوردی به صورت 23 ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در تمام طول مدت آزمایش بود. درجه حرارت در هفته اول 32 درجه سانتیگراد بود و پس از آن در هفته اول 2 درجه و سپس تا رسیدن به دمای 21

جدول 1- ترکیب اقلام خوراکی (درصد) و مواد مغذی جیره پایه

Table 1- Compositions of basal diets (%)

اقلام خوراکی Ingredient	جیره آغازین (1-10 روزگی) Starter (1-10 days)	جیره رشد (11-24 روزگی) Grower (11-24 days)	جیره پایانی (25-45 روزگی) Finisher (25-45 days)
ذرت Maize	50.16	54.12	58.66
کنجاله سویا 44% Soybean meal (44 % CP)	41.14	37.09	33.23
روغن آفتابگردان Sunflower oil	4	4.66	4.28
سنگ آهک Limestone	1.53	1.14	1.11
دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate	1.54	1.58	1.45
نمک طعام Salt	0.39	0.39	0.39
<sup>1</sup> مکمل مواد معدنی Trace mineral-premix <sup>1</sup>	0.25	0.25	0.25
مکمل ویتامینی Vitamin premix	0	0	0
ال-لیزین هیدروکلرید L Lysine hydrochloride	0.34	0.21	0.13
دی ال-متیونین DL Methionine	0.4	0.31	0.25
مواد مغذی (محاسبه شده) Calculated composition			
انرژی قابل متابولیسم AME (kcal/kg)	2950	3050	3100
پروتئین خام Crude protein (%)	22.91	21.29	10.87
چربی خام Crude fat (%)	6.14	6.91	7.01
اسید لینولئیک Linoleic acid	1.93	2.12	2.19
فیبر خام Crude fiber (%)	4.14	3.93	3.73
کلسیم Calcium	1.05	0.9	0.85
فسفر قابل دسترس Available Phosphorus (%)	0.45	0.45	0.42
سدیم Sodium (%)	0.16	0.16	0.16
لیزین Lysine (%)	1.43	1.24	1.12
متیونین Methionine (%)	0.7	0.6	0.54
متیونین+سیستین Methionine+Cysteine (%)	1.07	0.95	0.86
ترئونین Threonine (%)	0.95	0.89	0.83
آرژینین Arginine (%)	1.61	1.5	1.39

<sup>1</sup>مکمل مواد معدنی به ازای هر کیلوگرم از جیره مواد مغذی زیر را تأمین می‌کند: بتائین، 190 میلی‌گرم؛ روی، 65 میلی‌گرم؛ منگنز، 75 میلی‌گرم؛ سلنیوم، 0/2 میلی‌گرم؛ ید، 0/9 میلی‌گرم؛ مس، 6 میلی‌گرم؛ آهن، 75 میلی‌گرم

<sup>1</sup>Supplied per kilogram of diet: 190 mg Betaine, 65 mg Zinc, 75 mg Manganese, 0.2 mg Selenium, 0.9 mg Iodide, 6 mg Copper, 75 mg Iron

وزن‌های حاصل بر وزن زنده، وزن نسبی آن‌ها محاسبه گردید. در سن 42 روزگی از هر پن یک جوجه با میانگین وزنی پن انتخاب شد و از سیاهرگ بال نمونه‌ی خون تهیه گردید. نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد، سپس به مدت 15 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد و سرم از خون جدا گردید. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر با دمای 20- درجه سلسیوس تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مربوطه نگهداری شدند. مقادیر کلسترول، پروتئین، گلوکز، تری‌گلیسرید، آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز سرم خون توسط دستگاه اتوآنالایزر (Bio Systems S. A. Costa Brava 30,08030 Barcelona, Spain) اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و روش مدل‌های خطی عمومی (GLM) آنالیز شدند و میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5% ( $P < 0/05$ ) مقایسه شدند.

### نتایج و بحث

نتایج حاصل از عملکرد پرنده شامل مصرف خوراک روزانه، میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک در جدول 3 آورده شده است. در سن 10-1 روزگی بیشترین مصرف خوراک روزانه در تیمار 100 درصد سطوح توصیه شده پیش مخلوط متداول معادل نانومولتی‌ویتامین، مشاهده شد که با تیمار کنترل منفی اختلاف معنی داری داشت و کمترین مصرف خوراک روزانه نیز در تیمار کنترل منفی مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). در سایر دوره‌های پرورش نیز کمترین مصرف خوراک مربوط به تیمار کنترل منفی بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ). با توجه به نقش مهمی که ویتامین‌ها در متابولیسم بدن و سوخت و ساز کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها دارا می‌باشند، می‌توان افزایش مصرف خوراک در تیمارهایی که در جیره آن‌ها از پیش مخلوط ویتامینی استفاده شده بود را به نقش‌های متابولیکی ویتامین‌ها ارتباط داد؛ زیرا با افزایش متابولیسم و سوخت‌وساز بدن، سطح گلوکز در خون پایین آمده و از آن‌جایی که سطح گلوکز خون با اشتها رابطه عکس دارد می‌توان این چنین استنباط کرد که احتمالاً افزایش مصرف خوراک مشاهده شده در تیمارهای دارای پیش مخلوط ویتامینی می‌تواند به علت افزایش اشتها، متابولیسم و سوخت‌وساز بدن در این تیمارها و کاهش اشتها، متابولیسم و سوخت‌وساز بدن جوجه‌های تیمار فاقد پیش مخلوط ویتامینی، به علت بروز کمبودهای ویتامینی باشد (10).

در روز 45 آزمایش از هر تکرار یک پرنده کشتار شد و صفات مربوط به لاشه شامل: مقادیر وزن سینه، ران‌ها، بال‌ها، کبد، پیش معده، سنگدان، قلب، پانکراس، وزن روده کوچک و وزن چربی محوطه شکمی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001 گرم اندازه‌گیری شدند، سپس با تقسیم وزن اندام‌های داخلی بر وزن زنده، وزن نسبی آنها محاسبه گردید. همچنین طول روده کوچک نیز بر وزن زنده تقسیم گردید تا طول نسبی روده کوچک در تیمارهای مختلف بدست آید. همچنین وزن لاشه بعد از کشتار جوجه و جداسازی سر، پاها، برداشتن پوست و خالی کردن امعاء و احشاء از بدن به عنوان وزن لاشه در نظر گرفته شد، سپس با تقسیم وزن اندام‌های مربوط به لاشه به وزن زنده، وزن نسبی آنها به دست آمد. به منظور محاسبه درصد محصول لاشه، وزن لاشه بر وزن زنده تقسیم و عدد به دست آمده در 100 ضرب گردید (19). لازم به ذکر است که به منظور حداقل کردن اثر وزن محتویات دستگاه گوارش و خالی ماندن آن حدود 5 ساعت قبل از کشتار به جوجه‌ها گرسنگی داده شد. برای بررسی ایمنی همورال و اندازه‌گیری پاسخ ایمنی علیه SRBC (گلبول قرمز خون گوسفند) از سیاهرگ گردنی 4 راس گوسفند بلوچی خونگیری به عمل آمد و سپس نمونه‌ها در لوله‌های حاوی EDTA ضد انعقاد ریخته شدند و سپس گلبول‌ها 3 بار در بافر فسفات سالین (PBS) شسته شده تا نهایتاً سوسپانسیون 1% SRBC در PBS آماده گردید (1). در روز 28 آزمایش به دو جوجه از هر پن 0/5 میلی‌لیتر از محلول فوق در ماهیچه سینه تزریق شد. برای اندازه‌گیری پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه علیه SRBC، در روزهای 35 و 42 آزمایش (7 و 14 روز پس از تزریق) از هر پن دو جوجه انتخاب و از ورید بال آنها 2 میلی‌لیتر خون گرفته شد و برای انجام تیترا برای ایمنوگلوبولین کل یا T (IgT)، ایمنوگلوبولین M (IgM) و ایمنوگلوبولین G (IgG) به آزمایشگاه منتقل شد (15). برای بررسی ایمنی سلولی از تست CBH استفاده شد. بدین منظور در روز 42 آزمایش دو جوجه از هر پن انتخاب و ضخامت بین پرده انگشت دوم و سوم پای چپ آنها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری شد. سپس برای بررسی حساسیت بازوفیلی زیر پوستی، محلول فیتوهم‌آگلوتینین پی (PHA-P) محصول شرکت Sigma آمریکا با غلظت 1 mg/ml تهیه و 0/1 میلی‌لیتر از آن از طریق سرنگ انسولین به پرده بین انگشت دوم و سوم پای چپ جوجه‌ها تزریق شد و 12 و 24 ساعت بعد، ضخامت بین پرده انگشتان در محل تزریق اندازه‌گیری گردید و از محاسبه اختلاف ضخامت به دست آمده در قبل و بعد از تزریق نحوه فعالیت ایمنی سلولی ارزیابی شد (5). در روز 45 آزمایش یک پرنده از هر تکرار کشتار شد و پس از خارج کردن همه لوب‌های تیموس از دو طرف گردن و در طول ورید و داج و همچنین بورس فابریسیوس و طحال، وزن آن‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت 0/001 گرم اندازه‌گیری شد. سپس با تقسیم

**جدول 2-** ترکیب ویتامین‌های سه منبع پیش مخلوط ویتامینی استفاده شده در تیمارهای آزمایشی، در سه سطح 50، 100 و 150% مقدار توصیه شده (مقدار در هر کیلوگرم جیره)

**Table 2-** Vitamins compositions of three levels of three vitamin premixes used in treatments (Supplied per kilogram of diet)

ویتامین‌ها Vitamins	پیش مخلوط ویتامینی نانومولتی‌ویتامین Liquid Nano-multivitamin premix <sup>1</sup>			پیش مخلوط ویتامینی معادل نانومولتی‌ویتامین Nano-multivitamin equivalent vitamin premix <sup>3</sup>			پیش مخلوط ویتامینی توصیه شده سویه راس Ross strain recommended vitamin premix		
	50%	100% <sup>2</sup>	150%	50%	100%	150%	50%	100% <sup>4</sup>	150%
A (IU)	5000	10000	15000	5000	10000	15000	5500	11000	16500
D <sub>3</sub> (IU)	1700	3400	5100	1700	3400	5100	2500	5000	7500
E (mg)	25	50	75	25	50	75	25	50	75
K <sub>3</sub> (mg)	1.25	2.5	3.75	1.25	2.5	3.75	1.5	3	4.5
آسکوربیک اسید Ascorbic acid (mg)	4	8	12	4	8	12	4	8	12
تیامین Thiamin (mg)	1.05	2.1	3.15	1.05	2.1	3.15	1	2	3
ریبوفلاوین Riboflavin (mg)	1.75	3.5	5.25	1.75	3.5	5.25	3	6	9
نیاسین Niacin (mg)	17	34	51	17	34	51	30	60	90
دی-پانتوتنول D-pantothenol (mg)	7	14	21	7	14	21	7.5	15	22.5
پیریدوکسین Pyrodoxin (mg)	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	1.5	3	4.5
بیوتین Biotin (ug)	30	60	90	30	60	90	50	100	150
اسید فولیک Folic acid (ug)	225	450	675	225	450	675	875	1750	2625
B <sub>12</sub> (ug)	5	10	15	5	10	15	8	16	24

<sup>1</sup> Vitamins composition and liquid Nano-multivitamin premix were suggested and made by KDN BIO TECH Co.

<sup>2</sup> The manufacturer recommended level

<sup>3</sup> Premix made by Lohman Animal Health Co. crystalline pure vitamins which supplied the equal vitamins levels of liquid Nano-multivitamin premix.

<sup>4</sup> Supplied vitamins levels recommended by Ross Nutrition Supplement manual (2007), which made by Lohman Animal Health Co. crystalline pure vitamins.

داشتند ( $P < 0/05$ ). پایین‌ترین میانگین وزن زنده بدن در سن 10 روزگی نیز مربوط به تیمار کنترل منفی بود ( $P < 0/05$ ). در سن 24 و 45 روزگی نیز کمترین میانگین وزن زنده بدن مربوط به تیمار کنترل منفی بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ). با توجه به نقش ویتامین‌ها در سوخت‌وساز کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها و همچنین دخالت در انجام واکنش‌های متابولیسمی و با توجه به اینکه نانوویتامین‌ها نسبت به ویتامین‌های متداول دارای قابلیت جذب، فعالیت و زیست‌فراهمی بالاتری می‌باشند و از آنجایی که ویتامین‌های محلول در چربی زمانی که به عنوان نانوویتامین‌ها فرموله می‌شوند به صورت قابل توزیع در آب تبدیل می‌شوند (2) و برای جذب آنان نیازی به چربی‌ها نمی‌باشد و با توجه به اینکه جوجه‌ها در سن 10 روزگی قادر به هضم و جذب کافی چربی‌ها و متعاقباً

از جمله ویتامین‌هایی که کمبود آن می‌تواند مستقیماً در کاهش اشتها تاثیر بگذارد می‌توان به نیاسین، پیریدوکسین، اسید پانتوتنیک، ویتامین B<sub>12</sub> و از همه مهم‌تر به تیامین اشاره کرد که به علت عدم وجود مکمل ویتامینی در جیره غذایی تیمار کنترل منفی، می‌توان کاهش مصرف خوراک در این تیمار را به عدم تأمین نیازهای ویتامینی جوجه‌ها نسبت داد (10). از طرفی در تحقیقی که توسط ژانگ و همکاران (18) صورت گرفت نیز مصرف خوراک در تیمارهایی که در جیره غذایی آنان پیش مخلوط ویتامینی استفاده نشده بود، به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ).

بیشترین میانگین وزن زنده بدن در سن 10 روزگی به ترتیب در تیمار 150 و 100 درصد سطوح توصیه شده نانو مولتی ویتامین مشاهده شد که این دو تیمار اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها

در تیمار 10 مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ). در 1-45 روزگی نیز کمترین ضریب تبدیل در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین مشاهده شد که فقط با تیمار کنترل منفی اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). با توجه به افزایش میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه تیمارهای 100 و 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین در دوره آغازین و با توجه به افزایش مصرف روزانه خوراک در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین در دوره آغازین انتظار می‌رود که ضریب تبدیل خوراک تغییر چندانی نسبت به سایر تیمارها نداشته باشد اما همانگونه که در جدول 3 مشاهده می‌شود بهبود ضریب تبدیل خوراک در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین، در دوره آغازین، اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها به جز تیمار 100 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین، داشت ( $P < 0/05$ ). این بهبود ضریب تبدیل می‌تواند به افزایش متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها به علت افزایش زیست‌فراهمی و دوز بالاتر نانو ویتامین‌ها در این تیمار مربوط باشد. از آنجایی که این بهبود ضریب تبدیل خوراک در سایر دوره‌های رشد و پایانی محسوس نبود، می‌توان چنین استنباط کرد که بهبود ضریب تبدیل مشاهده شده می‌تواند بیشتر مربوط به افزایش جذب ویتامین‌های محلول در چربی‌ای باشد که توسط فناوری نانو به صورت محلول در آب تبدیل شده‌اند و سبب بروز اختلاف در پارامترهایی از قبیل افزایش وزن روزانه، میانگین وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک شده‌اند. ژانگ و همکاران (18) بیان کردند که در 42 روزگی در تیماری که در آن از 1 لیتر نانو مولتی‌ویتامین در هر تن خوراک استفاده شده بود نسبت به تیمار فاقد مکمل ویتامینی، ضریب تبدیل به میزان 12/11 درصد کاهش و میانگین وزن بدن 3/8 درصد افزایش یافت.

نتایج مربوط به صفات لاشه، وزن اندام‌های داخلی بدن و وزن اندام‌های لنفوئیدی (بورس فابریسیوس، تیموس و طحال) در سن 45 روزگی در جدول 4 آورده شده است. عدم استفاده از مکمل ویتامینی سبب افزایش معنی‌دار طول نسبی روده کوچک نسبت به سایر تیمارها گردید ( $P < 0/05$ ). این افزایش طول روده کوچک می‌تواند به علت مکانیسم نیازمندی پرنده به مواد مغذی باشد (16) که سبب افزایش طول روده کوچک جهت جذب بیشتر مواد مغذی و جبران کمبودهای غذایی باشد. به غیر از طول روده کوچک، وزن نسبی سایر اندام‌های داخلی بدن جوجه‌های گوشتی در این آزمایش تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ( $P > 0/05$ ). طبق نتایج به دست آمده، تیمارهای آزمایشی بر روی صفات لاشه تاثیر گذار بودند و کم‌ترین وزن نسبی محصول سینه و بالاترین وزن نسبی بال‌ها در تیمار کنترل منفی مشاهده شد که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0/05$ ).

ویتامین‌های محلول در چربی نمی‌باشند (10)، می‌توان بهبود میانگین وزن بدن مشاهده شده در تیمارهای 100 و 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین در سن 10 روزگی را به بهبود جذب ویتامین‌های A، D<sub>3</sub>، E و K و همچنین افزایش زیست‌فراهمی ویتامین‌های محلول در آب که به صورت نانوویتامین فرموله شدند نسبت داد (12).

در سن 1-10 روزگی بیشترین افزایش وزن روزانه به ترتیب در تیمارهای 150 و 100 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند و کمترین افزایش وزن روزانه مربوط به تیمار کنترل منفی بود که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت ( $P < 0/05$ ). در سایر دوره‌های پرورش نیز افزایش وزن روزانه تیمارهای آزمایشی دارای مکمل ویتامینی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار کنترل منفی بود ( $P < 0/05$ ) اما بین تیمارهای دارای مکمل ویتامینی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $P > 0/05$ ). این نتایج، با نتایج بدست آمده در تحقیق ژانگ و همکاران (18) همسو بود. اومارا و همکاران (12) بیان کردند که با استفاده از نانو تکنولوژی می‌توان زیست‌فراهمی ترکیبات محلول در چربی را افزایش داد و ویتامین‌هایی که در آب نامحلول هستند را محلول در آب کرد و موجب افزایش زیست‌فراهمی آن‌ها شد (6 و 11). از طرفی جوجه‌های گوشتی در روزهای آغازین زندگی خود به علت عدم توانایی کافی در تولید آنزیم لیپاز و باز جذب نمک‌های صفراوی از روده قادر به جذب کامل چربی‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی نمی‌باشند (10)، لذا درصد جذب ویتامین‌های محلول در چربی در سنین اولیه کاهش می‌یابد که این نقص احتمالاً با استفاده از نانوویتامین‌ها که کاملاً محلول در آب هستند، در سنین اولیه برطرف می‌شود. همچنین از طرفی نانوویتامین‌ها نسبت به ویتامین‌های متداول مورد استفاده در خوراک، دارای زیست‌فراهمی و درصد جذب بالایی هستند که می‌تواند موجب افزایش عملکرد ویتامین‌ها در بدن بشود (2) و از آنجایی که بسیاری از ویتامین‌ها در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها و همچنین در رشد بدن نقش دارند (10) می‌توان افزایش پارامترهای میانگین وزن زنده بدن، افزایش وزن روزانه و مصرف خوراک روزانه و کاهش ضریب تبدیل خوراک در دوره آغازین را در تیمارهایی که از محلول نانو مولتی‌ویتامین استفاده کرده بودند، به این عوامل نسبت داد.

در سن 1-10 روزگی کمترین ضریب تبدیل در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین مشاهده شد که این تیمار با همه تیمارها به جز تیمار 100 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین، اختلاف معنی‌داری را نشان داد ( $P < 0/05$ ). بیشترین ضریب تبدیل نیز مربوط به تیمار کنترل منفی بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت ( $P < 0/05$ ). در سایر سنین نیز بیشترین ضریب تبدیل خوراک

**جدول ۳-۲** اثر بیش‌مخطوط‌های نانومولتی‌ویتامین، متداول معادل نانومولتی‌ویتامین و متداول توصیه‌شده سوپه‌راس در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ درصد توصیه و تیمار شاهد منفی بر مصرف خوراک (گرم در روز برای هر جوجه)، افزایش وزن روزانه (گرم در روز برای هر جوجه) و ضریب تبدیل خوراک روزانه جوجه‌های گوشتی<sup>۱</sup>

**Table 3-** The effect of three levels of Nano-multivitamin premix, equal to Nano-multivitamin premix and Ross recommended vitamin premix and a negative control treatment on daily feed intake, daily weight gain and daily feed conversion ratio of broiler chickens<sup>1</sup>

Treatments	مکمل ویتامینی متداول نانو مولتی (درصدی از توصیه کارخانه سازنده)				مکمل ویتامینی متداول معادل نانو مولتی ویتامین (درصد توصیه کارخانه سازنده)				مکمل ویتامینی متداول سوپه راس (درصد توصیه سوپه راس ۳۰.۸)				SEM	P-value	
	50	100	150	50	100	150	50	100	150	50	100	150			
Age (day)															
مصرف خوراک															
Feed intake															
1-10	22.84 <sup>ab</sup>	24.12 <sup>a</sup>	23.1 <sup>ab</sup>	22.47 <sup>ab</sup>	22.5 <sup>ab</sup>	22.45 <sup>ab</sup>	23.83 <sup>a</sup>	22.97 <sup>ab</sup>	23.09 <sup>ab</sup>	21.02 <sup>c</sup>			0.64	0.2708	
11-24	54.24 <sup>a</sup>	54.81 <sup>a</sup>	58.01 <sup>a</sup>	53.28 <sup>a</sup>	56.04 <sup>a</sup>	55.44 <sup>a</sup>	57.4 <sup>a</sup>	65.11 <sup>a</sup>	54.51 <sup>a</sup>	43.61 <sup>b</sup>			1.73	0.0001	
25-45	158.65 <sup>a</sup>	165.18 <sup>a</sup>	162.56 <sup>a</sup>	163.7 <sup>a</sup>	157.78 <sup>a</sup>	157.89 <sup>a</sup>	164.27 <sup>a</sup>	159.55 <sup>a</sup>	159.87 <sup>a</sup>	102.53 <sup>b</sup>			3.98	0.0001	
1-45	97.26 <sup>a</sup>	99.59 <sup>a</sup>	97.47 <sup>a</sup>	99.03 <sup>a</sup>	97.55 <sup>a</sup>	97.56 <sup>a</sup>	95.97 <sup>a</sup>	97.18 <sup>a</sup>	98.55 <sup>a</sup>	66.82 <sup>b</sup>			2.12	0.0001	
افزایش وزن															
Weight gain															
1-10	18.31 <sup>b</sup>	21.79 <sup>a</sup>	22.05 <sup>a</sup>	17.55 <sup>b</sup>	18.3 <sup>b</sup>	19.01 <sup>b</sup>	17.5 <sup>b</sup>	17.58 <sup>b</sup>	18.11 <sup>b</sup>	14.1 <sup>c</sup>			0.49	0.0001	
11-24	38.65 <sup>a</sup>	38.79 <sup>a</sup>	40.82 <sup>a</sup>	37.65 <sup>a</sup>	37.49 <sup>a</sup>	39.09 <sup>a</sup>	38.54 <sup>a</sup>	37.65 <sup>a</sup>	39.36 <sup>a</sup>	18.74 <sup>b</sup>			1.02	0.0001	
25-45	85.49 <sup>a</sup>	84.75 <sup>a</sup>	91.15 <sup>a</sup>	88.98 <sup>a</sup>	84.6 <sup>a</sup>	85.37 <sup>a</sup>	84.41 <sup>a</sup>	89.12 <sup>a</sup>	89.68 <sup>a</sup>	38.67 <sup>b</sup>			2.86	0.0001	
1-45	55.3 <sup>a</sup>	56.45 <sup>a</sup>	57.48 <sup>a</sup>	55.8 <sup>a</sup>	55.76 <sup>a</sup>	56.67 <sup>a</sup>	54.38 <sup>a</sup>	56.34 <sup>a</sup>	57.4 <sup>a</sup>	28.07 <sup>b</sup>			1.31	0.0001	
ضریب تبدیل خوراک															
FCR <sup>2</sup>															
1-10	1.24 <sup>bc</sup>	1.1 <sup>de</sup>	1.04 <sup>c</sup>	1.28 <sup>bc</sup>	1.23 <sup>bc</sup>	1.18 <sup>cd</sup>	1.36 <sup>b</sup>	1.3 <sup>bc</sup>	1.27 <sup>bc</sup>	1.52 <sup>a</sup>			0.04	0.0001	
11-24	1.4 <sup>b</sup>	1.41 <sup>b</sup>	1.42 <sup>b</sup>	1.41 <sup>b</sup>	1.49 <sup>b</sup>	1.41 <sup>b</sup>	1.49 <sup>b</sup>	1.34 <sup>b</sup>	1.38 <sup>b</sup>	2.34 <sup>a</sup>			0.08	0.0351	
25-45	1.85 <sup>b</sup>	1.95 <sup>b</sup>	1.79 <sup>b</sup>	1.84 <sup>b</sup>	1.87 <sup>b</sup>	1.85 <sup>b</sup>	1.94 <sup>b</sup>	1.79 <sup>b</sup>	1.79 <sup>b</sup>	2.63 <sup>a</sup>			0.77	0.0001	
1-45	2.38 <sup>a</sup>	1.75 <sup>b</sup>	1.76 <sup>b</sup>	1.69 <sup>b</sup>	1.78 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>	1.72 <sup>b</sup>	1.76 <sup>b</sup>	1.72 <sup>b</sup>	1.72 <sup>b</sup>			0.03	0.0001	

<sup>1</sup> Values with a different superscript in a row differ significantly (P < 0.05).

<sup>2</sup> Feed conversion ratio

میانگین‌های هر سطر با حرف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P < 0.05).

جدول ۴- اثر بیش مخلوط‌های نانو مولتی ویتامین، متداول معادل نانو مولتی ویتامین و متداول توصیه سویه راس در سطوح ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ درصد توصیه و تیمار شاهد منفی بر صفات لاشه، وزن اندام‌های داخلی و وزن اندام‌های لنفوییدی بدن چونه‌های گوشتی در سن ۴۵ روزگی (درصد وزن زنده بدن)

**Table 4-** The effect of three levels of Nano-multivitamin premix, equal to Nano-multivitamin premix and Ross recommended vitamin premix and a negative control treatment on the carcass characteristics and internal and lymphatic organs relative weight of broiler chickens (% of live weight)<sup>1</sup>

Treatments	مکمل نانو مولتی ویتامین (درصدی از توصیه کارخانه سازنده) Liquid Nano-multivitamin premix (% of manufacturer recommended level)			مکمل ویتامینی متداول معادل نانو مولتی ویتامین (درصد توصیه کارخانه سازنده) نانومولتی‌ویتامین Common vitamin premix with vitamins equal to Nano- multivitamin premix (%)			مکمل ویتامینی متداول سویه راس (درصد توصیه سویه راس ۳۰۸) Ross recommended vitamin premix (% of Ross 308 recommended level)			SEM	P-value	
	50	100	150	50	100	150	50	100	150			
اندام‌های بدن												
Body organs												
لاشه بدون پوست												
Carcass without skin	69.51	69.62	68.11	67.39	67.4	69.65	67.16	67.78	68.35	68.31	0.8	0.2
سینه												
Breast	22.53 <sup>a</sup>	22.7 <sup>a</sup>	23.08 <sup>a</sup>	21.99 <sup>a</sup>	21.88 <sup>a</sup>	22.65 <sup>a</sup>	21.9 <sup>a</sup>	22.87 <sup>a</sup>	22.57 <sup>a</sup>	19.51 <sup>b</sup>	0.54	0.002
ران												
Thigh	19.61	19.44	19.26	19	19.77	19.31	19.96	19.15	19.46	18.5	0.47	0.67
بال												
Wing	5.64 <sup>b</sup>	5.71 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	5.41 <sup>b</sup>	5.61 <sup>b</sup>	5.65 <sup>b</sup>	5.42 <sup>b</sup>	5.4 <sup>b</sup>	5.68 <sup>b</sup>	6.56 <sup>c</sup>	0.19	0.008
کبد												
Liver	2.02	2.02	2.17	2.18	2.03	1.98	2.31	2.29	2.15	2.18	0.12	0.52
لوزالمعده												
Pancreas	0.27	0.26	0.24	0.27	0.24	0.25	0.25	0.28	0.27	0.28	0.02	0.82
قلب												
Heart	0.5	0.59	0.55	0.51	0.56	0.52	0.49	0.59	0.49	0.58	0.03	0.1
سنگدان												
Gizzard	1.58	1.51	1.57	1.57	1.53	1.58	1.46	1.62	1.54	1.62	0.09	0.97
پیش معده												
Proventriculus	0.5	0.57	0.58	0.51	0.5	0.53	0.54	0.51	0.55	0.52	0.05	0.98
وزن روده کوچک												
Small intestine weight	5.23	5.11	5.26	5.45	5.19	5.35	5.56	5.53	5.7	5.42	0.21	0.69
طول روده کوچک <sup>۲</sup>												
Small intestine length <sup>2</sup>	7.34 <sup>b</sup>	7.79 <sup>b</sup>	8.06 <sup>b</sup>	7.52 <sup>b</sup>	7.46 <sup>b</sup>	7.24 <sup>b</sup>	8.33 <sup>b</sup>	8.16 <sup>b</sup>	7.58 <sup>b</sup>	10.61 <sup>a</sup>	0.35	0.0001
چربی محوطه شکمی												
Abdominal fat	1.33	1.37	1.3	1.45	1.37	1.33	1.32	1.51	1.53	1.48	0.13	0.91
تیموس												
Thymus	0.49	0.51	0.52	0.5	0.51	0.51	0.5	0.51	0.51	0.43	0.035	0.8
بوریس فابریسیوس												
Fabricius Bursa	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.18	0.19	0.19	0.23	0.019	0.84
طحال												
Spleen	0.1	0.11	0.12	0.12	0.11	0.1	0.12	0.11	0.12	0.11	0.008	0.68

<sup>۱</sup> Values with a different superscript in a row differ significantly ( $P < 0.05$ ).  
<sup>۲</sup> (Cm/100g of body weight)

<sup>۳</sup> (سانتی‌متر/۱۰۰ گرم از وزن بدن)  
میانگن‌های هر سطر یا حرف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند ( $P < 0.05$ ).



**جدول 5-** اثر پیش مخلوط‌های نانو مولتی ویتامین، متداول معادل نانو مولتی ویتامین و متداول توصیه سویه راس در سطوح 50، 100 و 150 درصد توصیه و تیمار شاهدمنفی بر فراسنج‌های خونی (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)، پاسخ ایمنی همورال (بر حسب لگاریتم در مبنای 2 (log<sub>2</sub>)) و پاسخ ایمنی سلولی (میلی‌متر) جوجه‌های گوشتی در سن 42 روزگی<sup>1</sup>

**Table 5-** The effect of three levels of Nano-multivitamin premix, equal to Nano-multivitamin premix and Ross recommended vitamin premix and a negative control treatment on the blood parameters (mg/dL), humoral immune response (log<sub>2</sub>) and cellular immune response (mm) of broiler chickens<sup>1</sup>

تیمارها Treatments	مکمل نانو مولتی ویتامین (درصدی از توصیه کارخانه سازنده) Liquid Nano-multivitamin premix (% of manufacturer recommended level)			مکمل ویتامینی متداول معادل نانو مولتی ویتامین (درصد توصیه کارخانه سازنده نانو مولتی ویتامین) Common vitamin premix with vitamins equal to Nano-multivitamin premix (%)			مکمل ویتامینی متداول سویه راس (درصد توصیه سویه راس 308) Ross recommended vitamin premix (% of Ross 308 recommended level)			جیره شاهد منفی (فاقد مکمل ویتامینی) Negative control (0% vitamin premix)	SEM	P-value
	50	100	150	50	100	150	50	100	150			
پارامترهای خون Blood parameters												
گلوکز Glucose	207.4	209.4	208.2	208.2	204	209.8	205.6	206.2	203.2	202.6	4.79	0.97
آلانین آمینو ترانسفراز ALT <sup>2</sup>	79.8	77.6	81.2	78.6	76.6	81	78.8	82.4	79.8	77	2.63	0.84
آسپاراتات آمینو ترانسفراز AST <sup>3</sup>	233	231	233.6	228	219.4	214.4	229.4	219.4	219	227.6	8.64	0.76
پروتئین کل Total protein	31.2	32.6	31.6	31.2	30.2	32.2	31	31.8	32	29.2	1.35	0.83
تری‌گلیسیرید Triglycerides	105 <sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	114 <sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	<sup>a</sup>	107 <sup>a</sup>	<sup>a</sup>	68.4 <sup>b</sup>	9.67	0.12
کلسترول Cholesterol	106.4	116.2	115.6	111.4	105	109.8	106.8	106	116	107.6	5.35	0.71
آلبومین Albumin	16.2	16.6	16.6	17	16	16.4	16.2	16	16	15.6	0.42	0.54
ایمنی همورال Humoral immune												
IgG <sup>4</sup> (35 d)	1.6	1.6	2	1.4	1.6	1.6	1.66	1.25	1.6	1.4	0.28	0.89
IgG (42 d)	2.2	2.4	2.25	1.8	2	2.2	2.16	2.25	2.2	1.6	0.36	0.91
IgT <sup>5</sup> (35 d)	5.4	5.6	7.6	5.6	5.8	5.8	5.66	5.75	6.4	6	0.76	0.71
IgT (42d)	5.4	5.4	5.66	5.2	5.2	5.4	5.83	5	5.4	5.2	0.49	0.98
IgM <sup>6</sup> (35 d)	3.8	4	5.6	4.2	4.2	4.2	4	4.5	4.8	4.6	0.81	0.92
IgM (42 d)	3.2	3	3.25	3.4	3.2	3.2	3.66	2.75	3.2	3.6	0.61	0.99
ایمنی سلولی Cellular immune												
12 ساعت بعد از تزریق 12 h after injection	2.02	2.2	2.43	2.28	2.11	2.26	2.22	2.15	2.16	2.28	0.13	0.71
24 ساعت بعد از تزریق 24 h after injection	2.01 <sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	2.42 <sup>a</sup>	<sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	<sup>ab</sup>	1.7 <sup>b</sup>	0.16	0.35

<sup>1</sup> میانگین‌های هر سطر با حرف غیر مشابه دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشند (P < 0/05).

<sup>1</sup> Values with a different superscript in a row differ significantly (P < 0.05).

<sup>2</sup> Alanine aminotransferase

<sup>3</sup> Aspartate aminotransferase

<sup>4</sup> Immunoglobulin G

<sup>5</sup> Immunoglobulin T

<sup>6</sup> Immunoglobulin M

نشان داد که در 24 ساعت پس از تزریق، تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین، اختلاف معنی‌داری با تیمار کنترل منفی داشت ( $P < 0/05$ ). از دلایل به وجود آمدن اختلاف در پاسخ ایمنی سلولی بین این دو تیمار، می‌توان به بالا بودن سطح و زیست‌فراهمی ویتامین‌ها در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین و بروز کمبودهای ویتامینی در تیمار کنترل منفی اشاره کرد. کلاسیک (9) بیان کرد که کمبود ویتامین A از طریق کاهش تولید سلول‌های لنفوسیت نوع B، T، اختلال در فاگوسیتوز و کاهش مقاومت به عفونت‌ها منجر به کاهش عملکرد سیستم ایمنی می‌شود. کید (8) بیان کرد که افزودن ویتامین E به خوراک جوجه‌های گوشتی باعث افزایش تولید سلول‌های T از نوع  $CR_{2+}$  می‌گردد. همچنین بیان کرد که اسید آسکوربیک ماکروفاژها را هنگام فاگوسیتوز محافظت نموده و در نتیجه موجب تقویت پاسخ ایمنی

با واسطه سلولی می‌شود. همچنین کلاسیک (9) بیان کرد که در جیره‌هایی که فاقد مکمل‌های ویتامین  $D_3$  می‌باشد، به میزان قابل ملاحظه‌ای عملکرد سیستم ایمنی کاهش می‌یابد. مک دوول (10) نیز بیان نمود که افزودن ویتامین  $B_2$ ،  $B_6$  و  $B_{12}$  اثرات مثبتی را بر عملکرد سیستم ایمنی طیور دارد.

نتایج عملکرد جوجه‌های گوشتی در 42 روزگی در آزمایش ژانگ و همکاران (18) با نتایج به دست آمده در این مطالعه همسو بود و در هر دو آزمایش اختلاف معنی‌داری بین نتایج به دست آمده در نوع منابع ویتامینی مورد استفاده در تیمارهای مختلف وجود ندارد اما قابل به ذکر است که در آزمایش ژانگ و همکاران (18) بالاترین سطح استفاده از نانومولتی‌ویتامین در جیره، 1 لیتر در هر تن دان بود اما در آزمایش اخیر، استفاده از نانو ویتامین‌ها در سطح 1/5 برابر توصیه کارخانه سازنده، در دوره آغازین، سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی نسبت به تیمارهای پیش مخلوط ویتامینی متداول در سطوح 0/5، 1 و 1/5 برابر مقدار توصیه شده، گردید که اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). اما به نظر می‌رسد به علت محدود بودن مطالعات صورت گرفته، نیاز به انجام آزمایشات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

### نتیجه گیری کلی

استفاده از نانومولتی‌ویتامین در مقایسه با مکمل‌های ویتامینی متداول فقط در دوره آغازین سبب افزایش معنی‌دار میانگین وزن بدن، افزایش وزن روزانه و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک گردید ( $P < 0/05$ )، اما در سایر دوره‌های پرورش اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. توصیه می‌گردد در تحقیقات بعدی به منظور مقایسه دقیق‌تر تاثیر استفاده از نانو ویتامین‌ها نسبت به ویتامین‌های متداول، نانو ویتامین‌ها به صورت آشامیدنی به همراه آب مصرفی در اختیار

این کاهش وزن نسبی سینه می‌تواند به علت بروز کمبودهای ویتامینی باشد که در چرخه‌های سنتز و متابولیسم پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها خلل ایجاد کرده و مانع از رشد کافی ماهیچه سینه گردیده است (10). در تیمار کنترل منفی وزن نسبی بال نسبت به سایر تیمارها افزایش یافت که اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). ژانگ و همکاران (18) گزارش کردند که وزن لاشه قابل طبخ در تیمارهای حاوی 1، 0/5 و 0/2 لیتر نانو مولتی ویتامین در هر تن جیره غذایی نسبت به تیمار فاقد مکمل ویتامینی، به ترتیب به میزان 12/4، 11/38 و 2/95 درصد افزایش یافت که اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0/05$ ) و وزن لاشه کامل در تیمار حاوی 1/5 لیتر نانومولتی‌ویتامین به میزان 16/28 درصد، وزن سینه به میزان 6/52 درصد و وزن ران‌ها به میزان 5/95 درصد افزایش یافت که اختلاف معنی‌داری داشتند ( $P < 0/05$ ).

نتایج حاصل از وزن اندام‌های لنفوییدی نشان داد که تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر وزن نسبی این اندام‌ها نداشتند. پایین‌ترین وزن تیموس در تیمار کنترل منفی مشاهده شد که این کاهش وزن می‌تواند به دلیل وجود کمبودهای ویتامینی در این تیمار باشد. کید (8) رشد کمتر تیموس، بورس فابریسیوس و کاهش فعالیت لمفوسیت‌های T سیتوتوکسیک را در اثر کمبود ویتامین A در جوجه‌های گوشتی بیان کرده است.

نتایج مربوط به اثر سطوح و منابع مختلف ویتامینی بر فراسنجه‌های خونی، پاسخ ایمنی همورال و پاسخ ایمنی سلولی جوجه‌های گوشتی در سن 42 روزگی در جدول 5 آورده شده است. تیمارهای آزمایشی در این مطالعه فقط بر تری‌گلیسرید سرم خون تأثیر معنی‌دار داشتند که کم‌ترین سطح تری‌گلیسرید در تیمار کنترل منفی مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ). سایر فاکتورهای سرم خون تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. کاهش سطح تری‌گلیسریدها در تیمار کنترل منفی می‌تواند مربوط به عدم تأمین کافی ویتامین‌هایی از قبیل تیامین، ریوفالوین، نیاسین، پیریدوکسین، بیوتین، اسید پانتوتیک و ویتامین  $B_{12}$  باشد که در سنتز و متابولیسم چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب نقش دارند (10). نتایج مربوط به تست SRBC در 35 روزگی (تیتر اولیه) و 42 روزگی (تیتر ثانویه) اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد. اما بالاترین سطح IgM و IgT در 35 روزگی در تیمار 150 درصد سطوح توصیه شده نانومولتی‌ویتامین، مشاهده شد که این افزایش پاسخ ایمنی می‌تواند به علت افزایش زیست‌فراهمی و در نتیجه افزایش عملکرد نانوویتامین‌های استفاده شده در این تیمار باشد. محققان گزارش کردند که افزایش سطح ویتامین‌هایی از قبیل A، D، E و ویتامین‌های B کمپلکس می‌تواند سبب افزایش پاسخ ایمنی همورال گردد (8 و 9).

نتایج مربوط به تست ایمنی سلولی و ازدیاد حساسیت پوستی

جوجه‌های گوشتی قرار گیرند و تاثیر آن با مکمل‌های ویتامینی متداول که به صورت خوراکی یا آشامیدنی در تغذیه جوجه‌های گوشتی استفاده می‌شوند، مقایسه گردد.

## منابع

- 1- Abradaran, H., and F. Hoseini. 1991. Applied Immunology. 2<sup>th</sup> ed. Razavi cultural foundation press, p: 34. (In Persian).
- 2- Ahn, D. J. 2008. Nanovitamin synthesis. Edwards Angell Polmer & Dodge Publication, 2010/0055187A1.
- 3- Ahn, D. J. 2008. Nutrition delivery capsules for functional foods. Edwards Angell Polmer & Dodge Publication, 2010/0055298A2.
- 4- Alahyari-Shahrasb, M., H. Moravej., and M. Shivazad. 2012. Effect of different levels of vitamin premix during finisher period on broiler on performance and immunocompetence in battery cage and floor systems. Cuban Journal of Agricultural Science, 46(3): 12-14.
- 5- Corrier, D. E. 1990. Comparison of phytohemagglutinin-induced cutaneous hypersensitivity reactions in the interdigital skin of broiler and layer chicks. Avian Disease, 34:369–373.
- 6- ElKinawy, O. S., S. Petersen., and J. Ulrich. 2012. Technological aspects of nanoemulsion formation of low-fat foods enriched with vitamin E by high-pressure homogenization. Chemical Engineering & Technology, 35(5): 937-940.
- 7- Huang, Q., H. Yu., and Q. Ru. 2010. Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. Journal of food science, 75(1): 50-57.
- 8- Kidd, M. 2005. Relationship between the nutritional requirements and the immune system in poultry. Simposio internacional sobre exigencias nutricionais de aves e suinos, 2: 29-31.
- 9- Klasing, K. 2007. Nutrition and the immune system. British poultry science, 48(5): 18-53.
- 10- Mc-Dowell, L. R. 2008. Vitamins in animal and human nutrition, Wiley-Blackwell, 2: 1-20.
- 11- National Research Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> Rev. Ed. National Academy Press, Washington, D.C.
- 12- Omara, I., A. Chwalibog., and E. Sawosz. 2009. Application of nanoparticles of noble metals in animal science. Department of Basic Animal and Veterinary Sciences, University of Copenhagen.
- 13- Ross Nutrition Supplement manual. 2007.
- 14- Sanguansri, L., C. Oliver., and F. Leal-Calderon. 2009. Nanoemulsion Technology for Delivery of Nutraceuticals and Functional-Food Ingredients. Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and Health Sciences: 667-696.
- 15- Van Heugten, E., and J. W. Spears. 1997. Immune response and growth of stressed weaning pigs fed diets supplemented with organic or inorganic forms of chromium. Journal of Animal Science, 75: 409–416.
- 16- Yasar, S. 2003. Performance, gut size and ileal digesta viscosity of broiler chickens fed with whole wheat added diet and the diets with different wheat particle sizes. International Journal of Poultry Science, 2(1): 75-82.
- 17- Yanjing, Y., and d. Huang. 2010. Food Nanoemulsion System. Department of Chemistry, National, University of Singapore.
- 18- Zhang, W. j., W. q. Ouyang., S. Hu., W. Liu., and J. Wang. 2010. Natural Science Ed. Effects of composite vitamin nanoemulsion on growth performance and immunity in broilers. Journal of Northwest A & F University, 6: 013.
- 19- Zhao, J. P., J. L. Chen., G. P. Zhao., M. Q. Zheng., R. R. Jiang., and J. Wen. 2009. Live performance, carcass composition, and blood metabolite responses to dietary nutrient density in two distinct broiler breeds of male chickens. Poultry Science, 88: 2575–2584.

## Comparative Effects of Nano-Multivitamin Supplementation on Performance, some Blood Parameters and Immune Responses of Broiler Chickens

E. Sheikh-Samani<sup>1</sup> - A. Hasanabadi<sup>2\*</sup> - A. Golian<sup>2</sup>

Received: 15-06-2013

Accepted: 13-01-2014

**Introduction** Feed constitutes 70 to 75 percent of poultry flock costs which vitamins constitute 0.08 % of diet and 2 % of feed costs. Vitamins as a group of complex organic compounds are needed in small amounts for normal metabolism of the body. Researches have shown that vitamins with smaller particles as vitamin supplements, were more effective and showed higher bioavailability. Nano form of supplementation increases the surface area which possibly could increase absorption and thereby utilization of vitamins leading to reduction in the quantity of supplements and through higher bioavailability. Their greater bioavailability shows that nano-particulate vitamin compositions can be given in smaller doses with less amount of that vitamins passing through the body unabsorbed. Most vitamins and other substances that are insoluble in water when formulated as nanoparticles, can be easily solved in water and even can penetrate to the body parts that are impervious to the macro particles. this study was conducted to compare the efficacy of Nano-multivitamin (NMV) with common vitamins premix (CVP) on performance, some blood parameters and immune responses of broiler chickens to verify the beneficial effects of nano-vitamins in poultry nutrition.

**Materials and Methods** The experiment was conducted in a completely randomized design for 45 days. A total of 600, 1-d-old male broiler chicks (Ross strain) were randomly assigned to 10 treatments with 5 replicates and 12 chicks each. Mash basal diets were prepared and balanced for energy and all nutrient except vitamins according to the Ross Nutrition manual (2007), for starter (1-10 d), grower (11-24 d) and finisher (25-45 d) periods. Liquid NMV and Powder pure vitamins were added to diets after dilution with wheat bran to achieve weight of 2.5 kg of each premix for each ton of feed (2.5 kg premix/ton diet = 100% of recommended level). The size of NMV particles were 20-400 (nm) and the manufacturer's recommendations were used in feed or drinking water. In order to unify the experimental diets, 8 gr of vitamin C was added to Ross recommended vitamin premix and also 400 gr choline chloride (60%) was added to each 2.5 kg of three vitamin premix. Treatments 1, 2 and 3 respectively consisted basal diet (BD) + 50%, 100% and 150% NMV manufacturer recommended levels; treatments 4, 5 and 6 respectively consisted BD + CVP with vitamins levels equal to treatments 1, 2 and 3; treatments 7, 8 and 9 respectively consisted BD + 50%, 100% and 150% CVP which satisfied the Ross strain vitamins recommended levels; and treatment 10 consisted BD without vitamins premix supplementation, as a negative control. Feed intake, weight gain and feed conversion ratio were measured for each pen at 10, 24 and 45 days of age and feeding the diets were removed 5 hours before slaughter. SRBC (SRBC 1%) and CBH (PHA-P) tests were used to assess the humoral and cellular immunities of two chicks of each replicate, respectively. At the age of 42 days, one bird from each pen was selected and blood samples were collected from the wing vein. At the age of 45, one bird from each pen was selected and slaughtered to determine the carcass characteristics.

**Results and Discussion** Results showed that, treatments 2 and 3 significantly increased average body weight and daily weight gain of the birds in starter period (1-10 d) in comparison with other groups. Treatment 10, significantly decreased feed intake and daily weight gain and increased feed conversion ratio in all periods. This improvement might be due to the higher bioavailability of Nano-vitamins because of particles size reduction or converting fat-soluble vitamins to water-soluble vitamins. Omara et al (2009) demonstrated that nanotechnology can increase the bioavailability of fat-soluble compounds and increase their bioavailability. SRBC test showed no significant differences among the treatments. CBH test revealed that the birds receiving treatment 10 had significantly lower cellular immune response, 24 hours after injection, in comparison with other treatments. Treatment 10 significantly reduced triglyceride levels of serum and breast yield and significantly increased the relative weight of wings in carcasses and relative length of small intestine in comparison with other treatments.

**Conclusion** The results of this study showed that using NMV in the diet of broiler chickens may improve growth performance of broiler chickens just in the starter period.

**Key words:** Blood parameters, Broiler chickens, Immune system, Nano-Multivitamin, Performance.

1- PhD student of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad,  
2- Professor of Poultry Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.  
(\*- Corresponding author email: hassanabadi@um.ac.ir)