

## تأثیر مصرف ویتامین E اضافی بر عملکرد، کیفیت تخم و برخی فراسنجه‌های خونی در

### بلدرچین‌های مولد در طول آلودگی کوتاه مدت با سطوح بالای

### دی‌اکسید تیتانیوم پوشش‌دار شده با نانو نقره

- زینب فیروزی‌فرد

دانشجوی کارشناسی ارشد

- اردشیر شیخ‌احمدی (نویسنده مسئول)

استادیار دانشگاه کردستان

- امجد فرزین‌پور

استادیار دانشگاه کردستان

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۴

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۸۸۷۸۳۲۸۵

Email: A.sheikhahmadi@uok.ac.ir

#### چکیده

به منظور بررسی افزودن ویتامین E اضافه بر نیاز بر عملکرد، کیفیت تخم و برخی فراسنجه‌های خونی در بلدرچین‌های مولد در شرایط آلودگی کوتاه مدت با دی‌اکسید تیتانیوم پوشش‌دار شده با نانو نقره، ۹۶ قطعه بلدرچین تخم‌گذار (سن ۲۰ هفته) برای مدت ۴ هفته به ۶ تیمار آزمایشی با ۴ تکرار و ۴ پرند در هر تکرار (۳ قطعه ماده و یک قطعه نر)، اختصاص داده شدند. تیمارها شامل ویتامین E (۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) و دی‌اکسید تیتانیوم پوشش‌دار شده با نانو نقره (۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بودند. تولید تخم، میانگین وزن تخم برای هر پرند و ضریب تبدیل وزن تخم در طول دوره آزمایش برای هر پن محاسبه گردید. همچنین کیفیت تخم‌های تولیدی اندازه‌گیری گردید. داده‌های به دست آمده به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که نانو ذره موجب افزایش درصد تولید تخم گردید ( $P < 0/05$ ) اما بر سایر فراسنجه‌های تولیدی و همچنین بر فراسنجه‌های کیفیت تأثیر معنی‌داری نداشت ( $P > 0/05$ ). همچنین غلظت‌های گلوکز، اسیداوریک، تری‌گلیسرید و پروتئین کل، تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشتند ( $P > 0/05$ ). هر چند که اثر متقابل نانو ذره و ویتامین E معنی‌دار نگردید اما غلظت پلاسمایی تری‌گلیسرید و اسید اوریک در پرندهایی که ویتامین E به جیره آن‌ها افزوده شده بود به ترتیب تمایل به کاهش ( $P = 0/08$ ) و افزایش ( $P = 0/09$ ) داشتند. با توجه به عدم مشاهده تغییرات منفی در بلدرچین‌های تغذیه شده با نانو ذره؛ بنابراین عدم تأثیر افزودن ویتامین E اضافی در این پرندها بر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده منطقی می‌باشد.

Animal Science Journal (Pajouhesh &amp; Sazandegi) No 112 pp: 47-56

**The effect of additional vitamin E on performance, eggs quality and some blood parameters in Japanese quails during short-term contamination with high levels of Ag-coated titanium dioxide nanoparticles**Zeinab Firouzifard<sup>1</sup>, Ardashir Sheikahmadi<sup>2</sup>, Amjad Farzinpour<sup>3</sup>

1: Graduate Master Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

2: Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. (Corresponding Author); Tel: 08733620552; Email: A.sheikahmadi@uok.ac.ir.

3: 2: Assistant Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran.

**Received: August 2015****Accepted: February 2016**

The present study was designed to evaluate the effect of extra vitamin E (VE) supplementation on performance and some plasma parameters in laying Japanese quails exposed to Ag-coated titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles (NPs). Ninety six Japanese quails (20 weeks) were randomly assigned to 6 treatments with 4 replicates containing and 4 birds (3 females and 1 male per cage). Treatments included two levels of VE (0 and 200 mg/kg Diet) and three levels of Ag-coated TiO<sub>2</sub>NPs (0, 500 and 1000 mg/kg Diet). All produced eggs of each pen were collected once per day and the number of eggs and average weight of them were recorded to calculate the egg production and egg weight (per bird) throughout the experiment. The conversion ratio of egg weight was calculated for each pen. The results showed that Ag-coated TiO<sub>2</sub>NPs supplementation in the mentioned levels resulted in an increased egg production ( $P < 0.05$ ), however did not have significant effects on the other performance parameters and egg quality parameters ( $P > 0.05$ ). Furthermore, the plasma parameters were not affected by Ag-coated TiO<sub>2</sub>NPs ( $P > 0.05$ ). Although, the interaction of Ag-coated TiO<sub>2</sub>NPs and VE was not significant ( $P > 0.05$ ), however, the plasma levels of triglycerides and uric acid respectively tended to decrease ( $P = 0.08$ ) and increase ( $P = 0.09$ ) in birds fed VE. In conclusion, Ag-coated TiO<sub>2</sub> NPs did not show any toxic effect on the Japanese quail's performance, egg quality and stress-related plasma parameters, hence, the insignificant effect of VE supplementation on the measured parameters in Ag-coated TiO<sub>2</sub>-exposed quails is logical.

**Key words:** TiO<sub>2</sub>, Nanoparticles, Vitamin E, Laying quails, Plasma**مقدمه**

(ماده و نر) مورد بحث و بررسی قرار گرفته است (Iavicoli و همکاران، ۲۰۱۴). یکی از هورمون‌های مهم در حیوانات ماده که در رشد و توسعه فولیکول‌های تخمدان موثر می‌باشد، هورمون استروژن می‌باشد. هرچند که اثرات نانو ذرات بر غلظت استروژن پرندگان مورد مطالعه قرار نگرفته است، اما آزمایشات درون تنی و برون تنی بر روی پستانداران نتایج مختلفی را ایجاد کرده است. به عنوان مثال Esmailou و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تغذیه دهانی نانو ذره روی در موش‌های صحرایی تغییری در غلظت استروژن پلاسمای آن‌ها ایجاد نکرد، اما Gao و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده کردند که تغذیه موش‌های ماده با نانو ذره دی-اکسید تیتانیوم برای مدت ۹۰ روز موجب افزایش غلظت استرادیول در پلاسمای آن‌ها گردید. همچنین گزارش شده است که ذرات نانو نقره موجب افزایش تولید و تیلوژنین و پروتئین پیش-ساز زرده<sup>۱</sup> خواهد شد که میزان ساخت هر دو ترکیب تحت کنترل هورمون استروژن می‌باشد (Pham و همکاران، ۲۰۱۲). اما با این حال تاثیر نانو ذرات بر هورمون‌های تولید مثلی و از جمله

طبق تعریف سازمان تکنولوژی نانو ایالات متحده، نانو ذرات موادی هستند که حداقل در محدوده یک تا صد نانومتر باشند (Agarwal و همکاران، ۲۰۱۳). به دلیل خصوصیات فیزیکی و شیمیایی منحصر به فرد، نانو ذرات تعاملاتی با سلول‌های هدف در بدن انجام داده و باعث افزایش واکنش‌های فیزیولوژی بدن می‌شوند (Silva, ۲۰۰۸). از میان نانو ذرات، نانو لوله‌های کربنی و نانو ذرات فلزی، منافع تجاری قابل توجهی را ایجاد کرده‌اند که خواص قابل توجه آن‌ها مانند مقاومت کششی بالا و قدرت هدایت باعث استفاده از مواد نانو برای کاربردهای خاص شده است (Manke و همکاران، ۲۰۱۳). یکی دیگر از کاربردهای نانو ذرات، استفاده از آن‌ها به عنوان مواد ضد میکروبی در صنایع غذایی و تصفیه منابع آب و دامپروری می‌باشد. هرچند اثرات ضد میکروبی نانو ذرات به اثبات رسیده است، اما با این حال اثرات سمی نانو ذرات بر سلول‌های حیوانی نیز گزارش شده است (Yildirimer و همکاران، ۲۰۱۱).

تاثیرات مختلف نانو ذرات بر سیستم‌های هورمونی موجودات زنده

<sup>1</sup> Yolk-precursor lipoprotein

سیستم‌های دان‌خوری و آب مصرفی)، بررسی اثرات آن بر عملکرد طیور ضروری می‌باشد. همچنین به دلیل اثرات مثبت ویتامین E در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، فرض بر این است که افزودن ویتامین E اضافی می‌تواند اثرات مضر احتمالی نانوسید بر عملکرد طیور که ناشی از تنش اکسیداتیو باشد را کاهش دهد. با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق بررسی تغییرات احتمالی در عملکرد، کیفیت تخم و فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون در بلدرچین‌های تخم‌گذار تغذیه شده با دی‌اکسید تیتانیوم پوشش‌دار شده با نانو نقره در حضور و عدم حضور سطح اضافی ویتامین E (آلفاتوکوفرول استات) بود. فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون، فراسنجه‌های مربوط به استرس فیزیولوژیک هستند که در شرایط بروز تنش تغییر می‌کنند (Viriden و همکاران ۲۰۰۹).

### مواد و روش‌ها

این آزمایش بر روی ۹۶ قطعه بلدرچین بالغ با سن ۲۰ هفته که به صورت تصادفی به ۲۴ واحد آزمایشی شامل ۴ قطعه (سه قطعه پرنده ماده و یک قطعه پرنده نر) در هر واحد اختصاص یافته بودند، انجام گرفت. در طول دوره آزمایش، مصرف آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرنده‌ها قرار گرفت. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- جیره شاهد (بدون ویتامین E اضافی و دی‌اکسیدتیتانیوم)، ۲- جیره شاهد + ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره دی‌اکسیدتیتانیوم، ۳- جیره شاهد + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره دی‌اکسیدتیتانیوم، ۴- جیره شاهد + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره ویتامین E، ۵- جیره شاهد + ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره دی‌اکسیدتیتانیوم + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره ویتامین E و ۶- جیره شاهد + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره دی‌اکسیدتیتانیوم + ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره ویتامین E بودند. بلدرچین‌ها در تمام طول دوره آزمایش این جیره‌ها را دریافت کردند. جیره شاهد بر پایه ذرت و سویا بود (جدول ۱) و بر طبق توصیه انجمن ملی تحقیقات (NRC، ۱۹۹۴) تهیه و در اختیار پرندگان قرار گرفت. در طول آزمایش میزان خوراک مصرفی، وزن تخم و درصد تولید تخم هر پن محاسبه گردید. همچنین، ضریب تبدیل وزن تخم نیز از تقسیم کردن میانگین خوراک مصرفی بر حسب گرم بر وزن تخم بر حسب گرم به دست آمد. برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های کیفیت در فواصل مشخص، تعداد ۵ تخم از هر تیمار به مدت چهار روز متوالی در پایان دوره

استروژن هنوز به طور کامل شناخته نشده است و نتایج متناقضی نیز گزارش شده است. همچنین به عنوان مثال Stelzer and Hutz (۲۰۰۹)، گزارش کردند که کشت دادن سلول‌های گرانولوزای موش صحرایی با ۱۰ نانومول نانو ذره طلا منجر به افزایش ساخت استروژن در این سلول‌ها گردید، اما افزایش زمان کشت دادن سلول‌ها به ۲۴ ساعت منجر به کاهش ساخت استروژن گردید. به طور کلی Iavicoli و همکاران (۲۰۱۴)، بیان کردند که اثرات استروژنیک نانو ذرات در سلول‌های پستانداران و مدل‌های حیوانی ممکن است از طریق تاثیر بر گیرنده‌های موجود در غشای پلاسمایی و هسته سلول اعمال گردد که در نهایت منجر به فعال کردن مسیر استروژنیک خواهند شد.

علاوه بر تاثیر نانو ذرات بر سیستم‌های هورمونی موجودات زنده، یکی از اثرات منفی نانو ذرات ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد (Wang و همکاران، ۲۰۰۹). نانو ذرات به دلیل عبور آسان از غشاهای سلولی و اندامک‌های درون سلولی به آسانی وارد میتوکندری می‌شوند (Xia و همکاران، ۲۰۰۶؛ Nowack and Bucheli، ۲۰۰۷) و در نتیجه موجب تحریک تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و بروز تنش اکسیداتیو می‌شوند (Manke و همکاران، ۲۰۱۳). اما در موجودات زنده سیستم‌های دفاعی (آنتی-اکسیدانی) مختلفی برای مواجه شدن با رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط سلول‌ها در شرایط تنش وجود دارند (Surai، ۲۰۰۲). ویتامین E یکی از آنتی‌اکسیدان‌های موثر و محلول در غشاهای بیولوژیکی بدن است که با شکستن زنجیره رادیکال‌های آزاد مقدار آن‌ها را کاهش می‌دهد (غفاری و همکاران، ۱۳۸۸). Gao و همکاران، (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزودن ویتامین E به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره منجر به جلوگیری از کاهش وزن بدن جوجه‌های گوشتی در اثر تزریق گلوکوکورتیکوئیدها (هورمون تنش) شده است.

امروزه در ایران دی‌اکسید تیتانیوم پوشش‌داره شده با نانو نقره (محصول شرکت نانو نصب پارس با نام تجاری نانوسید) به عنوان محصولی تجاری غیرسمی جهت ضدعفونی کردن بخش‌های مختلف واحدهای مرغداری از جمله سالن‌های پرورش، تجهیزات تهیه و انتقال دان و همچنین هوای سالن‌ها پیشنهاد شده است. علاوه بر این، نانوسید به عنوان ترکیب غیرسمی برای ضدعفونی کردن آب و دان مصرفی در واحدهای دامپروری نیز پیشنهاد شده است. بنابراین، به دلیل ورود این نانو ذره به بدن طیور (از راه

ها بر وزن تخم و ضریب تبدیل وزن تخم معنی دار نبود. اما دی-اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره موجب افزایش معنی دار درصد تولید تخم گردید ( $P < 0/05$ ). همان طور که ملاحظه می شود دی اکسید تیتانیوم در طی چهار هفته آزمایش تاثیر معنی-داری بر فراسنجه های کیفیت تخم نداشت (جدول ۳). ویتامین E نیز تاثیر معنی داری بر فراسنجه های اندازه گیری شده نداشت. همچنین اثرات متقابل بین ویتامین E و دی اکسید تیتانیوم پوشش-دار شده با نانو نقره نیز معنی دار نشده است ( $P > 0/05$ ). هر چند که نتایج مربوط به فراسنجه های خونی در (جدول ۴) نشان دادند که دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره نتوانست در سطح خطای ۵ درصد تاثیر معنی داری بر غلظت گلوکز، اسید اوریک، تری گلیسرید و پروتئین کل پلاسما داشته باشد. اما باین حال در پرند هایی که ویتامین E اضافی دریافت کرده بودند، سطح پلاسمایی تری گلیسرید و اسید اوریک به ترتیب تمایل به کاهش ( $P = 0/08$ ) و افزایش ( $P = 0/09$ ) را نشان داده اند.

### بحث

تاکنون گزارشی در پرندگان در مورد اثرات دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره بر افزایش تخم گذاری در پرند ه های تخم گذار، گزارش نشده است. اما در تحقیقی Ni و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند که به کار بردن ۵ میلی گرم در لیتر سوسپانسیون دی اکسید تیتانیوم در کرم ابریشم موجب افزایش تخم گذاری در پروانه های بالغ آن ها گردید. Ni و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده کردند که دی اکسید تیتانیوم موجب افزایش بیان شدن پروتئین و تیلوژنین شده است و بنابراین، دلیل افزایش تولید تخم در پروانه های کرم ابریشم را افزایش بیان و تیلوژنین عنوان کردند. و تیلوژنین پیش ساز پروتئین سازنده زرده می باشد که در پرند ه های ماده تحت تاثیر هورمون استروژن در دوره تخم گذاری تولید می شود و کاهش ساخت آن می تواند موجب کاهش ساخت زرده و بالعکس افزایش ساخت آن منجر به افزایش تولید تخم در پرند ه های ماده می شود. هر چند که در این آزمایش غلظت پلاسمایی هورمون استروژن مورد اندازه گیری قرار نگرفت، اما یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش تولید تخم در بلدرچین هایی که در جیره آن ها دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با ذرات نانو نقره وجود داشت، می تواند افزایش تولید و ترشح هورمون استروژن باشد. در برخی از مطالعات انجام شده در پستانداران مشاهده شده است که میزان تولید استروژن در سلول های

آزمایش انتخاب و آزمایش کیفیت شامل طول و عرض تخم (با استفاده از کولیس، جهت محاسبه شاخص تخم)، ارتفاع سفیده، وزن سفیده، وزن زرده، وزن پوسته خشک (بعد از قرار دادن پوسته های تخم در آن به مدت ۷۲ ساعت) و ضخامت پوسته با استفاده از میکرومتر دیجیتالی (Mitutoyo, Tokyo, Japan) انجام گرفت. محاسبه شاخص تخم از طریق تقسیم میانگین عرض تخم بر میانگین طول تخم انجام گرفت. واحد هاو برای هر تخم بلدرچین بر اساس رابطه زیر محاسبه شد.

$$H.U = 100 \log(H + 7.57 - 1.7w^{0.37})$$

در رابطه بالا H.U واحد هاو<sup>۲</sup>، log لگاریتم عدد در مبنای ۱۰، H ارتفاع سفیده بر حسب میلی متر و W وزن تخم بلدرچین بر حسب گرم می باشد (Olobatoke and Mulugeta, ۲۰۱۱).

همچنین برای اندازه گیری فراسنجه های خونی پس از پایان ۴ هفته از هر قفس یک عدد بلدرچین انتخاب و از ورید بال آن خون-گیری انجام گردید و سپس خون در لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقادی اتیلن دی آمین تتراستیک اسید ریخته شد و سپس لوله ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلاسماهای به دست آمده تا زمان اندازه گیری فراسنجه-های خونی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره گردیدند. اندازه گیری گلوکز، تری گلیسرید، پروتئین کل و اسید اوریک پلاسما به ترتیب با استفاده از کیت های تجاری GOD، GPO-PAP، TOTAL PROTEIN و TOOS که از شرکت پارس آزمون (تهران، ایران) خریداری گردیدند، انجام گرفت. همچنین، روش اندازه گیری مورد استفاده بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jasco, V-570, Japan) اجرا گردید. داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SAS به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین ها با استفاده از آزمون LSMEANS مقایسه شدند.

### نتایج

نتایج مربوط به تاثیر افزودن دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره در حضور و عدم حضور ویتامین E اضافی بر فاکتورهای تولیدی بلدرچین های تخم گذار در جدول ۲ آورده شده است. همان طور که در این جدول نشان داده شده است، دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره و ویتامین E و اثرات متقابل آن-

<sup>2</sup>HaughUnits

کیلوگرم جیره دریافت کرده بودند، گلوکز، اسید اوریک و تری گلیسرید پلازما کاهش یافت و بیشترین کاهش گلوکز در دزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم از ویتامین E مشاهده شد. اما در تحقیق حاضر عدم افزایش سطح پلاسمایی گلوکز می تواند به دلیل عدم ایجاد تنش در بدن بلدرچین ها باشد و در نتیجه عدم ایجاد تنش تغییری در سطح پلاسمایی گلوکز مشاهده نشده است. علاوه بر این، افزایش سطح پلاسمایی تری گلیسریدها و پروتئین کل نیز از نشانه های بروز تنش در پرندگان می باشد (Puvadolpirod and Thaxton, ۲۰۰۰) اما این فراسنجه های پلاسمایی نیز در بلدرچین های تغذیه شده با دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره معنی دار نگردید. هرچند که اثرات ویتامین E بر کاهش تری گلیسرید پلازما در بلدرچین های ژاپنی در شرایط تنش گرمایی گزارش شده است، اما در این تحقیق اثرات متقابل دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره و افزودن ویتامین E معنی دار نگردید که می تواند به دلیل عدم تاثیر منفی و تنش زای دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره باشد. با این حال، اثر ساده افزودن ویتامین E بر تری گلیسرید پلازما تمایل به کاهش را نشان داد ( $P=0/08$ ). تاثیر کاهش دهندگی ویتامین E بر تری گلیسرید پلازما در مرغ های تخم گذار نیز گزارش شده است، اما تاکنون سازوکار فیزیولوژیکی خاصی برای آن مشخص نشده است. علاوه بر این، سطح اسید اوریک پلازما در بلدرچین هایی که ویتامین E به جیره آن ها افزوده شده بود تمایل به افزایش داشت ( $P=0/09$ ). هرچند که در پرندگان تاکنون گزارشی منتشر نشده است، اما در انسان ها گزارش شده است که اسید اوریک در خون با رادیکال های آزاد واکنش داده و به آلانتیون تبدیل شود. بنابراین، افزودن ویتامین E احتمالاً از طریق کاهش دادن رادیکال های آزاد شده از اپی تلیوم رگ های خونی به درون پلازما و یا خنثی کردن برخی از رادیکال های آزاد وارد شده از خون به درون اپیتلیوم رگ ها توانسته است میزان اکسیده شدن اسید اوریک و تبدیل شدن آن به آلانتیون را کاهش دهد و در نتیجه سطح اسید اوریک در پلاسمای بلدرچین های دریافت کننده ویتامین E اضافی نسبت به گروهی که ویتامین E اضافی دریافت نکرده بودند، افزایش یافته است.

گرانولوزای فولیکول های تخمدان در معرض نانو ذرات، افزایش پیدا می کند (Iavicoli و همکاران، ۲۰۱۴). هرچند که در برخی از مطالعات نیز اثرات کاهش دهندگی ترشح استروژن توسط نانو ذرات در سلول های گرانولوزا گزارش شده است (Stelzer and Hutz, ۲۰۰۹)، اما پیشنهاد شده است که تفاوت مشاهده شده در نتایج بر روی پستانداران می تواند به دلیل تفاوت در غلظت، نوع ترکیب شیمیایی نانو ذره و اندازه ذرات باشد (Iavicoli و همکاران، ۲۰۱۴). در مورد تاثیر دی اکسید تیتانیوم بر کیفیت تخم تحقیقی صورت نگرفته است. اما نتایج این آزمایش نشان می دهند که دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره اثری مضر بر خصوصیات کیفی تخم بلدرچین نداشته است. به نظر می رسد که پوشش دار کردن دی اکسید تیتانیوم با نانو ذرات نقره توانسته است اثرات سمی گزارش شده ناشی از دی اکسید تیتانیوم را خنثی کند. با توجه به این که در این تحقیق اثرات منفی ناشی از افزودن دی اکسید تیتانیوم بر کیفیت تخم مشاهده نشده است، بنابراین منطقی به نظر می رسد که افزودن ویتامین E در سطحی بالاتر از نیاز پرند (۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم جیره) نیز نتوانسته است اثرات معنی داری را ایجاد کند. در مطالعات پیشین نشان داده شده است که ویتامین E می تواند در شرایط تنش، برخی اثرات مثبت بر کیفیت تخم پرندگان داشته باشد. به عنوان مثال Puthpong siriporn و همکاران (۲۰۱۱)، با بررسی نقش افزودن ویتامین E، ویتامین A و یا هر دو ویتامین بر دو نژاد مرغ تخم گذار (د- کالب دلتا و های- لاین) در شرایط تنش گرمایی (۳۵ درجه سانتی گراد و به مدت سه هفته) گزارش کردند که واحد ها در گروه دریافت کننده ۶۵ واحد بین المللی در کیلوگرم جیره ویتامین E اضافی نسبت سطح توصیه شده نسبت به گروه های دیگر افزایش معنی دار پیدا کرده است. سطح گلوکز پلازما یکی از فاکتورهای مهم در شرایط تنش می باشد و در اکثر مواقع در تنش ها سطح گلوکز افزایش پیدا می کند (Puvadolpirod and Thaxton, ۲۰۰۰). Gursu و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که غلظت پلاسمایی گلوکز، اسید اوریک و تری گلیسرید خون در بلدرچین هایی که سطوح ۱۲۵ و ۲۵۰ میلی گرم ویتامین E در کیلوگرم جیره در شرایط تنش گرمایی دریافت کرده بودند نسبت به شاهد کمتر بود. همچنین Sahin (۲۰۰۱) گزارش کرد که در بلدرچین های ۱۰ روزه تحت شرایط تنش گرمایی ۳۴ درجه سانتی گراد که ویتامین E (آلفا توکوفرول استات) با دزهای ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی گرم در

## نتیجه گیری

هرچند که در این تحقیق دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو ذره نقره اثری نامطلوب بر عملکرد و خصوصیات کیفی تخم در بلدرچین های ژاپنی تخمگذار نداشت، و حتی موجب افزایش درصد تخمگذاری در طی ۴ هفته از مصرف آن شد.

اما با توجه به گزارش های پیشین در مورد اثرات نانو ذرات مختلف در ایجاد تنش های اکسیداتیو و همچنین احتمال ورود نانو ذرات به بافت هایی همانند عضلات اسکلتی و تخم پرندگان و در نتیجه ورود آنها به بدن مصرف کنندگان محصولات طیور، بنابراین در مطالعات بعدی بایستی اثرات دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره در سطوح به کار گرفته شده در این آزمایش بر روی بروز

تنش اکسیداتیو در پرندگان مورد آزمایش و همچنین غلظت آن در محصولات طیور که توسط انسان ها مصرف می گردد، مورد بررسی قرار گیرد. همچنین، با توجه به این که در شرایط بروز تنش، مکمل کردن جیره طیور با ویتامین E اضافی دارای اثرات بهبود دهنده گی بر عملکرد آنها می باشد و در این تحقیق اثر منفی و تنش زای دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره (با توجه به عدم تاثیر منفی بر عملکرد بلدرچین ها) مشاهده نگردید، بنابراین افزودن ویتامین E در سالن هایی که از دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره به عنوان ضد عفونی کننده استفاده می کنند، ضروری نمی باشد.

## جدول ۱- ترکیب اقلام خوراکی و مواد مغذی جیره پایه بلدرچین ها

اقلام خوراکی	واحد (%)
ذرت	۵۳/۱۲
کنجاله سویا	۳۵/۰۱
روغن	۳/۸
نمک	۰/۳۶
دی - ال متیونین	۰/۱۴
کربنات کلسیم	۵/۴۳
دی کلسیم فسفات	۱/۶۳
مکمل ویتامینی	۰/۲۵
مکمل معدنی	۰/۲۵
<b>آنالیز جیره</b>	
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری در کیلوگرم)	۲۹۰۰
پروتئین خام (%)	۲۰
کلسیم (%)	۲/۵
فسفر قابل دسترس (%)	۰/۳۵
متیونین (%)	۰/۴۵
سدیم (%)	۰/۱۵
کلر (%)	۰/۲۴

جدول ۲- تاثیر کوتاه مدت افزودن ویتامین E یا دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره و اثرات متقابل این دو فاکتور بر تولید تخم، ضریب تبدیل وزن تخم و وزن تخم در بلدرچین های ژاپنی

صفات اندازه گیری شده			تیمارها
وزن تخم (گرم)	ضریب تبدیل وزن تخم	تولید تخم (درصد)	
			دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم در کیلو گرم جیره)
۱۱/۰۷	۲/۸۰	۸۴/۰۷ <sup>b</sup>	۰
۱۱/۸۶	۲/۵۶	۹۰/۹۹ <sup>a</sup>	۵۰۰
۱۱/۲۸	۲/۵۵	۹۰/۳۰ <sup>a</sup>	۱۰۰۰
۰/۲۸۱	۰/۰۹	۱/۹۹	خطای استاندارد میانگین ها
			ویتامین E (میلی گرم در کیلو گرم جیره)
۱۱/۹۳	۲/۶۲	۸۸/۹۸	۰
۱۱/۲۵	۲/۶۶	۸۷/۷۱	۲۰۰
۰/۲۴۶	۰/۰۷	۱/۶۰	خطای استاندارد میانگین ها
			اثر متقابل
۱۱/۹۲	۲/۸۲	۸۳/۳۳	۰-۰
۱۰/۲۳	۲/۸۰	۸۴/۸۲	۰-۵۰۰
۱۲/۱۹	۲/۵۵	۹۱/۶۶	۰-۱۰۰۰
۱۱/۵۲	۲/۵۸	۹۰/۳۳	۲۰۰-۰
۱۱/۶۷	۲/۵۱	۹۱/۹۶	۲۰۰-۵۰۰
۱۲/۰۱	۲/۶۰	۸۸/۰۹	۲۰۰-۱۰۰۰
۰/۳۱۳	۰/۱۳	۲/۶۶	خطای استاندارد میانگین ها
			سطح احتمال
۰/۶۳	۰/۱۴	۰/۰۲	دی اکسید تیتانیوم
۰/۲۶	۰/۷۲	۰/۵۸	ویتامین E
۰/۷۱	۰/۹۴	۰/۶۳	ویتامین E × دی اکسید تیتانیوم

<sup>a, b</sup> میانگین های هر ستون با حرف مشترک دارای اختلاف معنی دار نمی باشند ( $P > 0.05$ ).

جدول ۳- تاثیر کوتاه مدت افزودن ویتامین E یا دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره و اثرات متقابل این دو فاکتور بر وزن نسبی زرده، وزن نسبی سفیده، وزن نسبی پوسته، ضخامت پوسته (میلی متر)، شاخص تخم (درصد) و واحد هاو (درصد) در بلدرچین های ژاپنی

صفات اندازه گیری شده						تیمارها
واحد هاو	شاخص تخم	ضخامت پوسته	وزن نسبی پوسته	وزن نسبی سفید	وزن نسبی زرده	
دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم در کیلوگرم جیره)						
۸۷/۸۵	۷۱/۳۷	۱/۰۲	۰/۰۹	۰/۵۲	۰/۳۰	۰
۸۶/۷۳	۷۲/۵۲	۱/۰۱	۰/۰۸	۰/۵۱	۰/۳۱	۵۰۰
۸۶/۲۵	۷۲/۱۵	۱/۰۲	۰/۰۹	۰/۵۱	۰/۲۹	۱۰۰۰
۰/۷۱۲	۱/۰۴۵	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۵	خطای استاندارد میانگین ها
ویتامین E (میلی گرم در کیلوگرم جیره)						
۸۷/۱۱	۷۲/۶۴	۰/۰۱	۰/۰۸	۰/۵۱	۰/۳۰	۰
۸۶/۷۵	۷۱/۳۹	۱/۰۲	۰/۰۹	۰/۵۲	۰/۳۰	۲۰۰
۰/۵۸۵	۱/۱۸۶	۰/۰۲۹	۰/۰۲۶	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳	خطای استاندارد میانگین ها
اثر متقابل						
۸۸/۶۷	۷۲/۸۸	۱	۰/۰۸	۰/۵۲	۰/۳۰	۰-۰
۸۷/۰۳	۶۹/۸۷	۱/۰۴	۰/۱	۰/۵۲	۰/۳	۰-۵۰۰
۸۷/۰۰	۶۹/۵۹	۰/۹۸	۰/۰۸	۰/۵۱	۰/۳۲	۰-۱۰۰۰
۸۶/۴۶	۷۵/۴۶	۱/۰۴	۰/۰۹	۰/۵۱	۰/۲۹	۲۰۰-۰
۸۵/۶۵	۷۵/۴۷	۱/۰۴	۰/۰۸	۰/۵۰	۰/۲۹	۲۰۰-۵۰۰
۸۶/۸۵	۶۸/۸۴	۰/۹۹	۰/۰۸	۰/۵۲	۰/۳۰	۲۰۰-۱۰۰۰
۰/۷۸۹	۲/۰۱۹	۰/۰۲۳	۰/۰۳۸	۰/۰۱۵	۰/۰۱۲	خطای استاندارد میانگین ها
سطح احتمال						
۰/۲۸	۰/۸۶	۰/۹۶	۰/۹۶	۰/۲۹	۰/۲۳	دی اکسید تیتانیوم
۰/۸۷	۰/۴۶	۰/۶۰	۰/۳۳	۰/۸۷	۰/۳۱	ویتامین E
۰/۳۹	۰/۰۸	۰/۳۰	۰/۴۸	۰/۳۹	۰/۸۰	ویتامین E × دی اکسید تیتانیوم



جدول ۴- تاثیر افزودن ویتامین E یا دی اکسید تیتانیوم پوشش دار شده با نانو نقره بر غلظت پلاسمایی گلوکز، اسیداوریک، تری گلیسرید و پروتئین کل در بلدرچین های ژاپنی

فراسنجه های اندازه گیری شده (میلی گرم در دسی لیتر پلاسما)			
تیمارها	گلوکز	اسید اوریک	تری گلیسرید
دی اکسید تیتانیوم (میلی گرم در کیلوگرم جیره)			
۰	۲۶۰/۷۱	۲/۶۸	۶۸۲/۳
۵۰۰	۲۸۴/۸۸	۳/۹۲	۵۴۹/۸
۱۰۰۰	۲۷۲/۶۳	۲/۳۶	۵۷۰/۰۰
خطای استاندارد میانگین ها	۲۰/۹۹	۰/۶۱	۱۴/۵۴
ویتامین E (میلی گرم در کیلوگرم جیره)			
۰	۲۵۸/۱۷	۲/۳۷	۶۲۸/۲
۲۰۰	۲۸۸/۶۴	۳/۹۹	۵۸۱/۰۰
خطای استاندارد میانگین ها	۱۷/۱۴	۰/۴۹	۱۲/۱۸
اثر متقابل			
۰-۰	۲۵۸/۵	۴/۰۴	۸۶۵/۰۰
۰-۵۰۰	۲۷۳/۲۵	۳/۲۷	۴۳۸/۰۰
۰-۱۰۰۰	۲۴۵/۲۵	۴/۷۱	۴۹۵/۵
۲۰۰-۰	۲۶۳/۶۶	۳/۳۶	۵۰۸/۵
۲۰۰-۵۰۰	۲۹۶/۵۰	۴/۱۸	۸۴۳/۵
۲۰۰-۱۰۰۰	۲۹۹/۵۰	۴/۴۶	۴۷۰
خطای استاندارد میانگین ها	۲۷/۴۲	۰/۷۱	۲۰۶/۸۳
سطح احتمال			
دی اکسید تیتانیوم	۰/۴۷	۰/۷۵	۰/۵۹
ویتامین E	۰/۴۳	۰/۰۹	۰/۰۸
ویتامین E × دی اکسید تیتانیوم	۰/۶۰	۰/۲۱	۰/۳۷

منابع

Esmaeillou, M., Moharamnejad, M., Hsankhani, R., Tehrani, A.A., Maadi, H. (2013). Toxicity of ZnO nanoparticles in healthy adult mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 35:67-71.

Gao, G., Ze, Y., Li, B., Zhao, X., Zhang, T., Sheng, L. et al. (2012). Ovarian dysfunction and gene-expressed characteristics of female mice caused by long-term exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*. 243:19-27.

غفاری، ط.، نوری، م.، رشیدی، م. ر.، وطن خواه، ا. م.، رضازاده، ح. و روشنگر، ل. (۱۳۸۸). مهار استرس اکسیداتیو القاء شده توسط استرپتوزوتوسین در موش های صحرائی به وسیله مکمل یاری توام ویتامین E و سلنیوم. *مجله علوم دارویی*، شماره ۳، صص. ۲۶۹-۲۷۸.

Agarwal, M., Murugan, M.S., Sharma, A., Rai, R., Kamboj, A., Sharma, H. et al. (2013). Nanoparticles and its toxic effects: A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2(10):76-82.

- Gao, J., Lin, H., Wang X.J., Song Z.G. and Jiao H.C. (2010). Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*. 89(2):318-327.
- Gursu, T., Sahin, N. and Kucuk, O. (2003). Effects of vitamin E and selenium on thyroid status, adrenocorticotropin hormone, and blood serum metabolite and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34°C). *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*. 16:95-104.
- Iavicoli, I., Fontana, L., Leso, V. and Bergamaschi, A. (2013). The Effects of Nanomaterials as Endocrine Disruptors. *International Journal of Molecular Science*. 14(8):16732-16801.
- Kand'ár, R., Záková, P. and Muzáková, V. (2006). Monitoring of antioxidant properties of uric acid in humans for a consideration measuring of levels of allantoin in plasma by liquid chromatography. *Clinica Chimica Acta*. 365:249-256.
- Lin, H., Decuyper, E. and Buyse, J. (2004). Oxidative stress induced by corticosterone administration in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) 1. Chronic exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 139:737-744.
- Manke, A., Wang, L. and Rojanasakul, Y. (2013). Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed research international*. 2013:15 pages.
- Ni, M., Li, F., Wang, B., Xu, K., Zhang, H., Hu, J. et al. (2014). Effect of TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on the Reproduction of Silkworm. *Biological trace element research*. 164(1):106-113.
- Nowack, B. and Bucheli, T.D. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental pollution*. 150(1):5-22.
- NRC (1994). Nutrient requirements of poultry. (9th Rev. Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
- Olobatoke, R.Y. and Mulugeta, S.D. (2011). Effect of dietary garlic powder on layer performance, fecal bacterial load, and egg quality. *Poultry Science*. 90(3):665-670.
- Pham, C.H., Yi, J., Gu, M.B. (2012). Biomarker gene response in male Medaka (*Oryzias latipes*) chronically exposed to silver nanoparticle. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 78:239-245.
- Puthongsiriporn, U., Scheideler, S.E., Sell, J.L. and Beck, M.M. (2001). Effects of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poultry science*. 80(8): 1190-1200.
- Puvadolpirod, S. and Thaxton, J.P. (2000). Model of Physiological Stress in Chickens 1. Response Parameters. *Poultry Science*. 79:363-369.
- Sahin, K. and Kucuk, O. (2001). Effects of vitamin E and selenium on performance, digestibility of nutrients, and carcass characteristics of Japanese quails reared under heat stress (34 C). *Animal Physiology and Animal Nutrition*. 85: 342-348.
- Silva, G.A. (2008). Nanotechnology approaches to crossing the blood-brain barrier and drug delivery to the CNS. *BioMed Neuroscience*. Sppl 3:S4.
- Stelzer, R. and Hutz R.J. (2009). Gold nanoparticles enter rat ovarian granulosa cells and subcellular organelles, and alter in-vitro estrogen accumulation. *Journal of Reproduction and Development*. 55(6):685-890.
- Surai, P.F. (2002). Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press, Nottingham, UK. pp: 5-9.
- Virden, W.S., Dozier, W.A., Corzo, A. and Kidd, M.T. (2009). Physiological stress responses in broilers as affected by drinking water supplements or dietary corn particle size. *Journal of Applied Poultry Research*. 18(2):244-251.
- Wang, B., Min, Z., Yuan, J., Zhang, B. and Guo, Y. (2014). Effects of dietary tryptophan and stocking density on the performance, meat quality, and metabolic status of broilers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 5(1):44.
- Wang, F., Gao, F., Lan, M. Yuan, H., Huang, Y. and Liu, J. (2009). Oxidative stress contributes to silica nanoparticle-induced cytotoxicity in human embryonic kidney cells. *Toxicology In Vitro*. 23(5):808-815.
- Xia, T., Kovochich, M., Brant, J., Hotze, M., Sempf, J., Oberley, T. et al. (2006). Comparison of the abilities of ambient and manufactured nanoparticles to induce cellular toxicity according to an oxidative stress paradigm. *Nano letters*. 6(8):1794-1807.
- Yildirimera, L., T.K.T. Nguyen, Loizidou, M. and Seifalian, A.M. (2011). Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nanotoday*. 6(6):585-607.