Iranian Journal of Animal Science
Vol 48, No 3, Autumn 2017 (439-451)
DOI: 10.22059/ijas.2018.243113.653565

علوم دامی ایران
دورۀ ۴۸، شمارۀ ۳، پاییز ۱۳۹۶ (ص ۴۵۱-۴۳۹)

تأثیر کاربرد عصارۀ متانولی، عصارۀ آبی و تفالۀ انگور یاقوتی (*V. venifera*) در مقایسۀ با پاداکسندۀ تجاری (BHT) بر شاخص‌های عملکردی، ایمنی و پاداکسندگی سرم خون و جمعیت باکتریایی رودۀ کور در جوجه‌های گوشتی

مهدی هدایتی[1*]، میلاد منافی[2]، شادی الماسی[3] و روح الله کریمی[4]
۱، ۲ و ۳. استادیار، دانشیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر
٤. استادیار، گروه فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۷/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۰/۱۸)

چکیده

این آزمایش برای ارزیابی تأثیر کاربرد عصارۀ متانولی، عصارۀ آبی و تفالۀ انگور یاقوتی (*V. venifera*) در مقایسه با پاداکسندۀ (آنتی‌اکسیدان) تجاری (BHT) بر شاخص‌های عملکردی، ایمنی و پاداکسندگی سرم خون و جمعیت باکتریایی رودۀ کور (سکوم) در جوجه‌های گوشتی انجام گرفت. ۱۵۰ قطعه جوجۀ یک روزۀ گوشتی سویۀ راس ۳۰۸ جنس نر، در پنج گروه آزمایشی، سه تکرار و ده قطعه جوجه در هر تکرار در قالب طرح کامل تصادفی به مدت ٤۲ روز آزمایش شدند. گروه‌های آزمایشی شامل: شاهد (جیرۀ پایه بدون هیچ‌گونه افزودنی)؛ جیرۀ پایه به همراه ۱۵۰ ppm عصارۀ متانولی انگور؛ جیرۀ پایه به‌همراه ۳ درصد تفالۀ انگور؛ جیرۀ پایه به‌همراه ۳ درصد عصارۀ آبی انگور و جیرۀ پایه به همراه ۲۰۰ ppm پاداکسندۀ تجاری BHT بودند. نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نشان داد، کاربرد گروه آزمایشی ۱۵۰ ppm عصارۀ متانولی انگور تأثیر معنی‌داری بر افزایش پاسخ ایمنی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان نسبت به گروه آزمایشی شاهد داشت. استفاده از عصارۀ آبی، تفاله و عصارۀ متانولی انگور در جیره منجر به افزایش معنی‌داری در فعالیت پاداکسندگی آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت پاداکسندگی کل در مقایسه با گروه شاهد شد، همچنین استفاده از عصارۀ متانولی انگور منجر به تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان پراکسیداسیون چربی غشا نیز شد. کاربرد ۱۵۰ ppm عصارۀ متانولی انگور نیز تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان ریزجانداران (میکروارگانیسم‌های) سالمونلا، اشرشیاکولی و کلی‌فرم‌های موجود در رودۀ کور جوجه‌های گوشتی داشت. در این بررسی مشخص شد گروه‌های آزمایشی به‌کار گرفته تأثیر معنی‌داری از لحاظ آماری بر فراسنجه‌های عملکردی شامل افزایش وزن بدن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی نداشت. بنابراین با توجه به نتایج به‌دست‌آمده گروه‌های آزمایشی حاوی تفاله، عصارۀ آبی و عصارۀ متانولی انگور یاقوتی می‌توانند جایگزین مناسبی برای پاداکسندۀ تجاری BHT در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: انگور، ایمنی، پاداکسنده، جوجۀ گوشتی، عملکردی.

Effect of methanolic and aqueous extraction and yaghooti grape pulp (*V. venifera*) in comparison with commercial antioxidants (BHT) on performance, immunity responses, serum antioxidant activity and cecum bacterial population of Broilers

Mahdi Hedayati[1*], Milad Manafi[2], Shadi almasi[3] and Rouhollah karimi[4]
1, 2, 3. Assistant Professor, Associate Professor and Fromer M. Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, Malayer University, Malayer, Iran
4. Assistant Professor, Department of Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran
(Received: Oct. 17, 2017 - Accepted: Jan. 8, 2018)

ABSTRACT

The current experiment was evaluated the effect of methanolic and aqueous extraction of Yaghooti grape and Yaghooti grape pulp (*V. venifera*) compared to a commercial antioxidants (BHT) on on Performance, Immunity Responses, serum antioxidant activity and cecum bacterial population of Broilers. One hundred and fifty day-old Ross 308 broiler chicks were assigned to 5 dietary treatments, 3 replicated in each treatment and 10 chicks per each replicate in a completely randomized design for 42 days. The experimental treatments consisted of: control (basal diet without additive); basal diet with 150 ppm grape methanolic extract; basal diet with 3% grape pulp; basal diet with 3% grapes aqueous extract of and basal diet with 200 ppm BHT as commercial antioxidants. The results showed that use of 150ppm grape methanolic extract had a significant effect on immune response against Newcastle disease and avian influenza viruses compared to the control group. The use of aqueous extracts, pulp and methanolic extract led to a significant increase in enzymatic antioxidant activities (superoxide dismutase and glutathione peroxidase) and total antioxidant capacity compared to the control group. Also, use of grape methanolic extract reduced the lipid peroxidation of membranes significantly. The use of 150 ppm grape methanolic extract significantly reduced the Salmonella, *Escherichia coli* and coliforms in cecum of broiler chicks. It can be concluded that pulp, Aqueous and methanolic extracts of Yaghooti grape could be considered as a suitable substitute for BHT commercial antioxidant.

Keywords: Antioxidant activity, broilers, grape, immunity, performance.

* Corresponding author E-mail: hedayati@malayeru.ac.ir

مقدمه

رادیکال‌های آزاد می‌توانند با القای پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده و تولید محصولاتی همچون مالون‌دی‌آلدهید (MDA)[1] به غشای یاخته‌ای آسیب زده و در نهایت منجر به تضعیف سامانهٔ ایمنی و پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) پرنده شوند (Fasseas *et al*., 2007). به‌رغم وجود پاداکسنده‌های آنزیمی سوپراکسیددیسموتاز (SOD)[2]، گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX)[3] و کاتالاز (CAT)[4] و غیرآنزیمی (ویتامین‌های E، C، ترکیب‌های فنولی، کوآنزیم Q و ...) در بدن، سامانهٔ دفاعی به تنهایی قادر به از بین بردن رادیکال‌های آزاد ایجادشده در بدن نیست، به همین جهت نیاز به تأمین پاداکسنده از منابع خارجی دارد که از طریق منابع غذایی تأمین می‌شود (Kono & Fridovich, 1982). شواهد بسیار زیادی وجود دارد که سمی بودن و تأثیر سوء تغذیه‌ای پاداکسنده‌های مصنوعی اضافه‌شده به مواد غذایی مانند بوتیرات هیدروکسی‌آنیول (BHA)[5]، بوتیرات‌هیدروکسی‌تولوئن (BHT)[6] و ترت‌بوتیل‌هیدروکینون (TBHQ)[7] را تأیید می‌کند (Williams *et al*., 1999). افزون بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از عیب‌های استفاده از پاداکسنده‌های مصنوعی است (Williams *et al*., 1999). بنابراین نیاز به پاداکسنده‌های قوی با سمیت کمتر و اثربخشی بیشتر یک ضرورت پرهیزناپذیر در صنعت پرورش طیور است به‌همین دلیل امروزه به‌منظور حفظ و افزایش سلامت مصرف‌کنندگان و نیز دست‌یابی به منابع جدید و ارزان قیمت پاداکسنده‌های طبیعی توجه زیادی به ضایعات محصولات کشاورزی حاوی پاداکسنده‌های طبیعی معطوف شده است (Fasseas *et al*., 2007). گسترش سطح کشت درختان میوه در کشور موجب ایجاد صنایع جانبی از جمله کارخانه‌های تهیهٔ آبمیوهٔ پرشماری شده است که از جمله فرآورده‌های جانبی این کارخانه‌ها تولید پسماندهای جانبی مانند تفاله بوده که حدود ۲۵ درصد محصول اصلی را به خود اختصاص می‌دهد (Kang *et al*., 2006). تفاله‌ها افزون بر اینکه مقادیری از مواد مغذی محصول را دارند، الیاف خام بالا، مواد پاداکسنده، ویتاییدها و مواد کانی داشته و به نسبت محصول اصلی قیمت پایینی درند. از آنجایی‌که تولید انگور در ایران درحدود ۳ میلیون تن است (Marin *et al*., 2007)، بیش از ۲۰ درصد انگور پس از گرفتن شیره و آب انگور به‌صورت تفاله باقی می‌ماند، لذا یکی از مهم‌ترین تفاله‌های تولیدی، تفالهٔ حاصل از انگور است (Alipour & Rouzbehan, 2007) و در کشور ما تولید تفالهٔ انگور بیش از ۵۰ هزار تن در سال بوده که این تفاله، حاوی پوسته و دانه‌های انگور است (Zengting *et al*., 2013). انگور گیاهی از خانوادهٔ تاک‌سانان (*Vitaceae*) و جنس *Vitis* است که بیشتر رقم‌های تجاری آن متعلق به گونهٔ *V. venifera* است. حضور اسیدهای آلی، قندها و ترکیب‌های معطر در گوشت میوه، ترکیب‌های آنتوسیانینی، تانن‌ها، فلاونول‌ها و ترکیب‌های معطر در پوست و تانن‌ها و روغن در بذر انگور موجب‌شده تا این میوه اهمیت بالایی از نظر غذایی و دارویی داشته باشد (Kennedy, 2008). تفالهٔ انگور منبع غنی از فنول‌ها و فلاونوئیدها به‌عنوان منابع پاداکسنده بوده که از بین آن‌ها می‌توان به کاتچین‌ها، اپی‌کاتچین‌ها و پروسیانیدین‌ها اشاره کرد (Zengting *et al*., 2013). با توجه به حجم بالا و محتوای آب زیاد تفاله‌ها، دفع این مواد در محیط اطراف چالش‌های زیست محیطی بسیاری را موجب می‌شود. به‌همین خاطر محققان درصدد ارائهٔ راه‌حل‌های استفادهٔ بهینه از این پسماندها و کاهش چالش‌های زیست‌محیطی هستند. از جمله راهکارهای پیشنهادی، کاربرد ضایعات میوه‌ها مانند تفالهٔ باقی‌مانده پس از استحصال آب آن در خوراک دام و طیور البته پس از فرآوری آن در کارخانه‌های مربوطه است. با توجه به اینکه بر پایهٔ بررسی دقیق منابع پیشین، در جوجه‌های گوشتی آزمایشی درزمینهٔ کاربرد تفالِ انگور یاقوتی صورت نگرفته است در این آزمایش تأثیر مقایسه‌ای پاداکسندگی عصارهٔ متانولی، تفاله و آب انگور یاقوتی با پاداکسندهٔ تجاری BHT بر

1. Malondialdehyde
2. Super oxid dismutase
3. Glutathione peroxidase
4. Catalase
5. Butylated Hydroxy Aniol
6. Butylated Hydroxyl Toluene
7. Tert Butyl Hydrokinon

شاخص‌های عملکردی، ایمنی، شاخص‌های پاداکسندگی سرم خون و باکتری‌های رودهٔ کور (سکوم) در جوجه‌های گوشتی ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

برای انجام این بررسی، از ۱۵۰ قطعه جوجهٔ یک روزهٔ گوشتی جنس نر (سویهٔ راس ۳۰۸) با میانگین وزن یک‌روزگی ۴۰ گرم استفاده شد. آزمایش بر پایهٔ طرح کامل تصادفی با پنج گروه آزمایشی، سه تکرار و ده مشاهده در هر تکرار انجام شد. گروه‌های آزمایشی به ترتیب شامل: شاهد (جیرهٔ پایه بدون هیچ‌گونه افزودنی)؛ جیرهٔ پایه به‌همراه ۱۵۰ ppm عصارهٔ متانولی انگور؛ جیرهٔ پایه به‌همراه ۳ درصد تفالهٔ انگور؛ جیرهٔ پایه به‌همراه ۳ درصد عصارهٔ آبی انگور و جیرهٔ پایه به همراه ۲۰۰ppm پاداکسندهٔ تجاری BHT بودند. جیره‌های آزمایشی برای دو دورهٔ آغازین (۱ تا ۲۸ روزگی) و پایانی (۲۸ تا ۴۲ روزگی) بر پایهٔ راهنمای پرورش راس ۳۰۸ (۲۰۱۴) تنظیم شد. پس از تهیهٔ جیرهٔ پایه میزان مورد نیاز از افزودنی‌های تحت بررسی به جیرهٔ پایه افزوده و تیمارهای آزمایشی تهیه شدند (جدول ۱). برنامهٔ نوردهی سالن در سه روز اول به صورت پیوسته و از روز چهارم به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی بود. دمای سالن در روز اول ۳۴ درجه بوده و از هفتهٔ اول به بعد به ازای هر هفته ۲ درجهٔ سلسیوس کاهش پیدا کرد و در هفتهٔ ششم، به ۲۰ درجهٔ سلسیوس کاهش یافت. در طول دورهٔ اجرای آزمایش همهٔ جوجه‌ها به‌صورت آزاد به آب آشامیدنی و خوراک مصرفی دسترسی داشتند. به منظور بررسی صفات عملکردی، افزایش وزن، دان مصرفی و ضریب تبدیل غذایی به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری و ثبت شدند (Abdolkarimi & Daneshyar, 2010). در ۲۱ و ۴۲ روزگی از یک قطعه جوجه از هر واحد آزمایشی، از ناحیهٔ ورید بالی به میزان دو سی‌سی نمونهٔ خون گرفته و برای بررسی پادتن علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوآنزا به آزمایشگاه ایمنی‌شناسی برای بررسی به‌روش HI[1] روش جلوگیری از هم‌آگلوتیناسیون) صورت گرفت (Wang *et al*., 2008). به‌منظور بررسی شاخص‌های پاداکسندگی سرم خون جوجه‌های گوشتی نیز در ۲۱ و ۴۲ روزگی از هر واحد آزمایشی ۲ قطعه جوجه انتخاب و پس از ۹ ساعت گرسنگی دادن، خون‌گیری از ورید بال آن‌ها به‌عمل آمد و سرم در سانتریفیوژ ۳۰۰۰ در پنج دقیقه به دستآمد که برای بررسی به آزمایشگاه ارسال شد (Abdolkarimi & Daneshyar, 2010). برای بررسی میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخصی از میزان اکسایش (اکسیداسیون) در پلاسمای خون، از آزمایش تیوباربیتوریک اسید[2] استفاده شد (Wang *et al*., 2008). اندازه‌گیری FRAP[3] (اندازه‌گیری توانایی احیاکنندگی فریک پلاسما) به‌عنوان یک روش جدید در ارزیابی توان پاداکسندگی پس از تشکیل کمپلکس رنگی با استفاده از مقایسهٔ تغییرات جذب نوری در ۵۹۳ نانومتر انجام شد (Bagchi *et al*., 2003). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز از کیت تهیه‌شده توسط شرکت (Randox) انگلیس استفاده شد. در این روش آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز توسط کومن‌هیدروپراکسید[4] واکنش اکسایش گلوتاتیون را کاتالیز می‌کند (Bagchi *et al*., 2003). به‌منظور اندازه‌گیری سطح آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز از گزانتین و گزانتین‌اکسیداز برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده شد. در صورت وجود آنزیم سوپراکسیداز در نمونه، رادیکال‌های سوپراکسید به H_2O_2 و O_2 تبدیل و فعالیت آنزیم سوپراکسیدازدیسموتاز به‌وسیلهٔ درجهٔ جلوگیری از این واکنش تعیین شد (Bagchi *et al*., 2003). برای بررسی تغییرات جمعیت میکروبی رودهٔ کور جوجه‌های گوشتی در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی پس از ۵ ساعت گرسنگی دادن به جوجه‌ها، از هر واحد آزمایشی ۱ قطعه جوجهٔ گوشتی روز کشتار و و پس از جدا کردن رودهٔ کور میزان ۱ گرم از محتویات آن با استفاده از پنس سترون‌شده (استریل) برداشته و به ظرف نمونهٔ سترون منتقل شدند و در شرایط کامل سترون و در

1. Hemagglutination Inhibition

2. TBARS
3. Ferric- Reducing Ability of plasma assay
4. Cumene hydroperoxide

دمای یخچال به آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه علوم دامی دانشگاه ملایر ارسال شدند (Wang *et al*., 2008).

نحوهٔ تهیهٔ تفالهٔ انگور، عصارهٔ متانولی و عصارهٔ آبی انگور

انگور را پس از خریداری و تأیید جنس و گونهٔ آن توسط کارشناس باغبانی و جدا کردن ساقه و برگ آن، چندبار شستشو داده، آنگاه به کمک دستگاه، آب انگور را استخراج کرده و پس از سه بار عبور دادن از صافی (با قطر منافذ ۱ میلی‌متر، تهیه‌شده در شرکت SWAN Life Sciences آلمان)، عصارهٔ آبی حاصل به درون ظرف‌های مخصوص ریخته و در آن‌ها محکم بسته و در فریزر ۱۸- درجهٔ سلسیوس تا زمان مورد استفاده نگهداری شد (Rouzbehan *et al*., 2008). تفالهٔ انگور باقی‌مانده روی پلاستیک بزرگ ریخته و در معرض خورشید قرار داده شد تا به‌طور کامل خشک شود. پس از گذشت ده روز و خشک شدن کامل تفالهٔ انگور آن را از روی پلاستیک جمع کرده و با آسیاب برقی به‌طور کامل پودر کرده و به آزمایشگاه در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس انتقال داده شد (Rouzbehan *et al*., 2008).

برای تهیهٔ عصارهٔ متانولی انگور ۳۰ گرم از تفالهٔ انگور آسیاب‌شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۹۶ درصد، به مدت ۷۲ ساعت روی همزن با دور ۱۸۰ RPM و دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. عصارهٔ به‌دست‌آمده پس از عبور از کاغذ صافی (واتمن ۴۰) با استفاده از دستگاه روتاری (مدل ۰r۰۶۱۲۱۱۹) در شرایط خلاء و در دمای ۴۰ درجهٔ سلسیوس تغلیظ و سپس توسط نور مستقیم خورشید خشک شد. پودر به‌دست‌آمده در ظرف پلاستیکی درب‌دار قرار داده شد و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد (Rouzbehan *et al*., 2008).

تجزیهٔ ترکیب‌های شیمیایی آب، تفاله و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی در آزمایشگاه علوم دامی دانشگاه ملایر و با استفاده از روش‌های AOAC سال ۱۹۸۴ (AOAC, 1990) و تجزیهٔ ترکیب‌های پاداکسندگی آن‌ها نیز در آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه ملایر با استفاده از روش‌های Akowuah *et al.* (2005) تعیین شد (Akowuah *et al*., 2005) (جدول‌های ۲ و ۳).

جدول ۱. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب مواد مغذی جیرهٔ آزمایشی (جیرهٔ پایه و جیره با ۳ درصد تفالهٔ انگور)

Table 1. Ingredients and chemical composition of the experimental diets (basal and 3% Grape Pulp)

Ngredients (%)	1-28 d		Additive level (%)	29-42 d	
	0	3		0	3
Corn	64.59	60.53		68.19	64.01
Soybean meal	29.10	28.10		27.01	26.03
Fish meal	2.87	2.20		1.38	1.00
Di calcium phosphate	1.47	1.38		1.48	1.30
Oyster meal	1.06	0.88		1.06	0.78
DL-Methionine	0.14	0.15		0.13	0.13
L-Lysine HCl	0.02	0.01		-	
Salt	0.25	0.25		0.25	0.25
*Mineral premix	0.25	0.25		0.25	0.25
*Vitamin premix	0.25	0.25		0.25	0.25
Yaghooti Grape Pulp	-	3.00		-	3.00
Calculated composition					
ME (kcal/kg)	2900	2900		2950	2950
Crude protein (%)	20.43	20.43		18.85	18.85
Crude fiber (%)	3.57	4.23		3.94	3.92
Ether extract (%)	2.82	2.92		2.88	2.97
Calcium (%)	0.92	0.92		0.86	0.86
Available phosphorus (%)	0.46	0.46		0.42	0.42
Sodium chloride (%)	0.15	0.15		0.14	0.14
Lysine (%)	1.16	1.16		1.02	1.03
Methionine (%)	0.52	0.52		0.47	0.47
Methionine + Cystine (%)	0.83	0.83		0.76	0.76

* ترکیب مکمل ویتاییدی استفاده‌شده به ازای هر کیلوگرم شامل: ویتایید A ۲۲۵۰۰ واحد بین‌المللی، ویتایید D3 ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتاییدE ۴۵ واحد بین‌المللی، ویتاییدK ۵ میلی‌گرم، ویتاییدB1 ۴/۳ میلی‌گرم، ویتاییدB2 ۱۶/۵ میلی‌گرم، ویتایید B12 ۰/۰۴ میلی‌گرم، اسیدپانتوتنیک ۲۴/۵ گرم، اسیدفولیک ۲/۵ میلی‌گرم، نیاسین ۷۴ میلی‌گرم، پریدوکسین ۷/۳ میلی‌گرم.

** ترکیب مکمل کانی استفاده‌شده به ازای هرکیلوگرم شامل: سولفات منگنز ۲۴۸ میلی‌گرم، سولفات آهن ۱۲۵ میلی‌گرم، اکسیدروی ۲۱۱ میلی‌گرم، سولفات مس ۲۵ میلی‌گرم، یدات‌کلسیم ۲۵ میلی گرم، سلنیوم ۰/۰۵ میلی‌گرم، کولین ۶۲۵ میلی‌گرم.

* Composition of the vitamin supplement used per kilogram includes: Vitamin A, 22500 IU; Vitamin D3, 5000 IU; Vitamin E, 45 IU; Vitamin K, 5ml; Vitamin B1, 4.3mg; Vitamin B2, 16.5mg; Vitamin B12, 0.04mg; Pentotenic acid 24.5g; Folic acid 2.5mg; Niacin 74mg, Pyridoxine 7.3mg.

** The composition of the mineral supplement used per kilogram is included: Manganese sulfate 248mg; Iron sulfate 125mg; Zinc oxide 211mg; Copper sulfate 25mg; Calcium iodine 25mg; Selenium 0.05mg; Choline 625mg.

تجزیه‌وتحلیل داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (2001) نسخهٔ ۹/۱۲ و با استفاده از دستورکار GLM در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از روش Tukey در سطح اختلاف معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. مدل آماری طرح به صورت زیر بود:

$$Y_{ij}=\mu + T_i+e_{ij} \quad (۱)$$

که در مدل آماری بالا: μ= میانگین جمعیت، T_i= تأثیر جیرهٔ غذایی، e_{ij}= اثر خطای آزمایشی است.

در این پژوهش داده‌های مربوط به پاسخ‌های ایمنی با استفاده از اندازه‌گیری‌های تکرارشده در زمان با نرم‌افزار آماری SAS (2001) نسخهٔ ۹/۱۲ و با به‌کارگیری رویهٔ مختلط (Mixed) با مدل آماری زیر تجزیه‌وتحلیل شد:

$$Y_{ijk}= \mu + T_i+w_j+Tw_{ij}+ e_{ijk} \quad (۲)$$

در این مدل آماری: μ= میانگین جمعیت، T_i= تأثیر جیرهٔ غذایی، w_j= اثر هفته‌های آزمایشی، Tw_{ij}= اثر متقابل دوره در تیمار و e_{ijk} = اثر خطای آزمایشی است.

جدول ۲. ترکیب‌های شیمیایی آب، تفاله و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (بر حسب درصد از مادهٔ خشک)

Table 2. Chemical composition of Juice, Pulp and Yaghooti Grapes Methanolic Extraction (% of DM)

Composition* (kcal/kg)	CP	EE	CF	Ash	DM	OM	ME
Yaghooti Grape Pulp	12.5	10.2	48.3	5.55	91	85.45	1830
Yaghooti Grape Juice	7.26	4.33	3.6	2.3	21	18.7	1520
Yaghooti Methanolic Extraction	12.3	9.3	45.7	4.5	89	84.5	1950

* Crude Protein
* Ether Extract
* Crude Fiber
* Dry Matter
* Organic matter
* Metabolize Energy

جدول ۳. ترکیب‌های شیمیایی آب، تفاله و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (میلی‌گرم بر گرم وزن مرطوب)

Table 3. Composition Chemical of Juice, Pulp and Yaghooti Methanolic Extraction (mg/g as fed)

Composition Carbohydrate	DPPH* (%)	Flavonoid	Anthocyanin	Phenol
Yaghooti Grape Pulp 20.5	11.09	55	5.98	0.76
Yaghooti Grape Juice 22.7	13.59	25.49	5.05	0.81
Yaghooti Methanolic Extraction 17.2	31.84	56.21	4.63	0.60

* Diphenyl-2-picryl-hydrazyl

نتایج و بحث

نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نشان داد، گروه‌های آزمایشی مختلف تأثیر معنی‌داری بر افزایش وزن هفتگی و ضریب تبدیل غذایی در هیچ‌کدام از دوره‌های پرورشی ۴۲ روزه در جوجه‌های گوشتی نداشته است. در رابطه با کاربرد خوراک نیز گروه آزمایشی دریافت‌کنندهٔ ۳ درصد آب انگور در بازهٔ زمانی ۱-۲۸ روزگی نسبت به دیگر گروه‌های آزمایشی افزایش معنی‌داری از لحاظ آماری داشته و در دیگر بازه‌های زمانی مورد بررسی، تغییر معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی مشاهده نشد (جدول۱). در راستای نتایج به‌دست‌آمده در بررسی کاربرد سطوح مختلف عصارهٔ اتانولی گیاه پونه در جیره به سبب وجود مقادیر فراوان ترکیب‌های پاداکسندگی و ضدمیکروبی همانند فنول و اپی‌کاتچین موجود در انگور منجر به افزایش وزن در جوجه‌ها شد (Rehani Mohassess, 2011). در پژوهش دیگری استفاده از عصارهٔ آبی آویشن به دلیل داشتن میزان بالایی از پلی‌فنول‌ها و آنتوسیانین منجر به نداشتن تأثیر معنی‌دار بر وزن بدن جوجه‌های گوشتی شد Abdolkarimi & Daneshyar, 2010). در بررسی Ertas *et al.* (2005) مخلوط اسانس گیاهان انیسون، میخک و پونهٔ کوهی که حاوی ترکیب‌های پاداکسندگی همچون فلاونول و آنتوسیانین همسان با ترکیب‌های پاداکسندگی موجود در انگور هستند، اثر معنی‌داری بر کاربرد خوراک جوجه‌های گوشتی نداشت. محققان دیگری نیز در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، کاربرد سطوح مختلف پودر مرزه با داشتن میزان زیادی ترکیب‌های فلاونوئیدی، در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی در مقایسه با BHT اثر معنی‌داری بر کاربرد خوراک جوجه‌ها نداشته است (Ghalamkari *et al.*, 2011). استفاده از پودر

زنجبیل و سیر به میزان برابر در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی به دلیل غنی بودن آن‌ها از لحاظ ترکیب‌های پاداکسندگی و مقادیر فراوان پلی‌فنول همچون انگور، موجب بهبود ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی شد (Safa, 2014). در پژوهشی کاربرد ۵ گرم بر کیلوگرم پودر زنجبیل در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی به‌رغم وجود ترکیب‌های فنولی فراوان همسان با فنول موجود در انگور، تفاوت معنی‌داری بر ضریب تبدیل خوراک ایجاد نکرده است (Peyvastegan *et al.*, 2012). در واقع افزایش وزن ایجادشده در جوجه‌های گوشتی مصرف‌کنندهٔ گروه‌های آزمایشی عصارهٔ متانولی، عصارهٔ آبی و تفالهٔ انگور اگرچه از لحاظ آماری معنی‌دار نشده است، اما دلیل آن را می‌توان در نتیجه کاربرد پاداکسنده‌های طبیعی از جمله پلی‌فنول‌های موجود در انگور و به پیروی از آن بهبود کارایی جذب مواد مغذی جیره، تحریک ترشح صفرا و شیرابه‌های گوارشی از کبد، لوزالمعده و رودهٔ کوچک، ضدعفونی کردن روده و کاهش عامل‌های مزاحم در هضم و جذب نسبت داد (Margeretha *et al.*, 2012) زیرا از جمله ویژگی‌هایی که برای انگور بیان شده است ویژگی میکروب‌کشی آن است که وجود آن در جیره‌های غذایی طیور تأثیری مثبت در کاهش کاهش جمعیت میکروبی زیانبار دستگاه گوارش داشته و با جلوگیری از تجزیهٔ اسیدهای‌آمینهٔ غذا و با جذب بهتر، این اسیدهای‌آمینه برای ساخت بافت‌های پروتئینی مصرف شده و با ذخیره‌سازی در اندام‌های مختلف مانند سینه، باعث افزایش وزن می‌شوند (John *et al.*, 2001).

جدول ۴. مقایسهٔ اثر تیمارهای مختلف بر میانگین وزن بدن، میانگین خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در دوره‌های مختلف پرورش

Table 4. Comparison of the effects of different treatments on body weight gain, feed intake and feed convertion ratio (FCR) of broiler at different periods

Experimental Days / Treatments	1-7	1-14	1-21	1-28	1-35	1-42
Body weight gain						
Control	1179	2568.7	5229	8583.3	13420	19517
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	1242.33	2683.3	5491.3	9133.3	14173.3	19536
Yaghooti Grape Pulp	1163.33	2598.3	5366.7	860	13516.7	18579
Yaghooti Grape Juice	1319.67	2936.7	5879.7	9600	14633.3	19998
BHT	1164	2570.3	5500.3	9066.7	13810	19454
SEM	45.06	113.11	258.5	433.7	1802.3	1076.5
P-Value	0.13	0.18	0.50	0.47	0.67	0.91
Feed intaike						
Control	1090	3479.3	9202.7[b]	15229.3[b]	22293.3	33626.7
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	1152.33	3650.3	9522.3[ab]	15063.7[b]	23009	33649
Yaghooti Grape Pulp	1084.67	3446.3	8942.3[b]	14634[c]	22350	33403.3
Yaghooti Grape Juice	1187.67	3918	10539[a]	16308[a]	24500.7	35684
BHT	1100.33	3357	9178[b]	14597[b]	22011.7	33278.3
SEM	52.1	20.9	268.57	264.7	266.07	620.6
P-Value	0.58	0.37	0.01	0.006	0.06	0.10
Fed Convertion Ratio (FCR)						
Control	0.92	1.34	1.76	1.78	1.66	1.73
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	0.93	1.35	1.73	1.64	1.62	1.72
Yaghooti Grape Pulp	0.92	1.32	1.67	1.71	1.65	1.81
Yaghooti Grape Juice	0.89	1.33	1.79	1.69	1.67	1.78
BHT	0.94	1.29	1.66	1.60	1.59	1.70
SEM	0.03	0.04	0.04	0.07	0.007	0.07
P-Value	0.87	0.87	0.35	0.49	0.77	0.81

* Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05).

* در هر ردیف بین میانگین‌های با حرف‌های متفاوت، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

Yaghooti Grape Methanolic Extraction (150 ppm) — عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (۱۵۰ ppm)

Yaghooti Grape Pulp (3%) — تفالهٔ انگور یاقوتی (۳٪)

Yaghooti Grape Juice (3%) — آب انگور یاقوتی (۳٪)

BHT (200 ppm) — پاداکسندهٔ تجاری BHT (۲۰۰ ppm)

در واقع افزودنی‌هایی همانند پاداکسنده‌ها می‌توانند با تأثیر بر گیاهان (فلور) میکروبی دستگاه گوارش، سبب جلوگیری از رشد و افزونش بیمارگر (پاتوژن)ها در شرایط پرورشی نامطلوب مانند تراکم بالای گله، رعایت نکردن مسائل بهداشتی و بروز تنش‌های محیطی و رفتاری افزایش یافته و در این شرایط کاربرد این ترکیب‌های افزودنی می‌تواند تأثیر مطلوب‌تری بر میزان خوراک مصرفی پرندگان داشته باشند (Sarica *et al*., 2005)، اما علت کاهش خوراک مصرفی و در نتیجهٔ آن افزایش وزن حاصل نشده را می‌توان در کاربرد گروه‌های آزمایشی در جیره به‌دلیل عامل‌هایی چون ناکافی بودن مادهٔ مؤثره یا مواد فعال گیاهی برای تأثیرگذاری بر افزایش وزن طیور، نادرست بودن روش یا کوتاه بودن مدت زمان کاربرد آن گروه آزمایشی، نداشتن خلوص یا استاندارد نبودن غلظت مواد مورد استفاده، شرایط خاص حیوانات مورد آزمایش از جمله وزن آغازین ورود آن‌ها به سالن و شرایط سلامت فیزیولوژی دستگاه گوارشی آن‌ها و موارد همسان آن نسبت داد (Najafi & Torki, 2010). به‌طور کلی اضافه کردن پاداکسنده‌ها به جیرهٔ جوجه‌های گوشتی تأثیر مثبتی بر دستگاه گوارش دارد و باعث ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود بازدهی خوراک می‌شود. در این بررسی کاهش ضریب تبدیل غذایی نشان‌دهندهٔ تأثیر مثبت کاربرد تفاله و آب انگور به‌عنوان پاداکسندهٔ طبیعی در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی است. در واقع انگور به‌علت ویژگی‌های ضدباکتریایی منجر به کاهش باکتری‌های زیانبار در دستگاه گوارش شدهو در نتیجه باعث می‌شود هضم و جذب مواد مغذی بهتر صورت گیرد و در نهایت موجب کاهش ضریب تبدیل می‌شود (Zomravi, 2013). در کل سودمندی کاربرد پاداکسنده‌های طبیعی در تغذیهٔ طیور بستگی به عامل‌های زیادی دارد. تفاوت در ترکیب و میزان کاربرد مادهٔ آزمایشی، ژنتیک پرندگان، ترکیب کلی خوراک و مدیریت مرغداری می‌تواند به‌عنوان مهم‌ترین عامل‌های تأثیرگذار در بازدهی سود نهایی در نظر گرفته می‌شود (Svensson *et al*., 2001).

پاسخ عیارسنجی ایمنی علیه ویروس نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد، گروه آزمایشی دریافت‌کنندهٔ ۱۵۰ ppm عصارهٔ متانولی انگور در مقایسه با گروه‌های آزمایشی دریافت‌کنندهٔ ۳ درصد تفاله و آب انگور و ۲۰۰ ppm پاداکسندهٔ تجاری BHT، افزایش معنی‌داری در میزان پاسخ ایمنی علیه واکسن آنفلوآنزا و نیوکاسل داشته است (جدول ۵). در این تحقیق تأثیر گروه‌ها و روزهای آزمایشی در میزان پادتن (آنتی‌بادی) علیه ویروس آنفلوآنزا نیز معنی‌دار شد (جدول ۵). در واقع تولید رادیکال‌های آزاد موجب تضعیف سامانهٔ دفاعی بدن طیور شده به‌طوری که دیوارهٔ یاخته‌ای بسیاری از یاخته‌های ایمنی بدن همانند لنفوسیت‌ها و درشت‌خوار (ماکروفاژ)ها در برابر آسیب های اکسایشی بسیار حساس بوده و در نتیجه آن‌ها را در مقابل شرایط تنش بسیار آسیب‌پذیر می‌کند (Bahrami *et al*., 2010). یاخته‌های سامانهٔ ایمنی برای پیشگیری از آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد، محصولاتی مانند ویتایید A، E، C، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاتالاز دارند که نداشتن تعادل بین آن‌ها و سامانه‌های تولیدکننده رادیکال‌آزاد منجر به تنش اکسایشی‌شده که با آسیب یاخته‌ای در بسیاری از حالت‌های پاتولوژیک همراه می‌شود که آسیب ناشی از رادیکال‌های‌آزاد یک سازوکار مهم آسیب یاخته‌ای است (John *et al*., 2001). بدین‌ترتیب ترکیب‌های پاداکسندگی موجود در انگور با از بین بردن رادیکال‌های آزاد تولیدشده، منجر به تقویت سامانهٔ ایمنی، بهبود عملکرد حیوان و افزایش پاسخ ایمنی حاصل در برابر واکسیناسیون علیه بیماری‌های آنفلوآنزا و نیوکاسل شده است. از سوی دیگر، ترکیب‌های فعال موجود در افزودنی‌های طبیعی مانند پلی‌فنول‌ها توانایی بهبود سامانهٔ ایمنی را با ازبین بردن تنش اکسایشی موجود در بدن پرنده دارند و همچنین خیلی از این ترکیب‌های فعالیت درشت‌خوارها را برای عملکرد بهتر تقویت می‌کنند (Goel *et al*., 2002).

فراسنجه‌های پاداکسندگی سرم خون

در این بررسی مشخص شد، کاربرد ۳ درصد تفالهٔ انگور، ۳ درصد آب انگور و عصارهٔ متانولی انگور به میزان ۱۵۰ ppm منجر به ایجاد تأثیر معنی‌داری بر افزایش سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و FRAP و

استفاده از عصارهٔ متانولی انگور به میزان ۱۵۰ ppm منجر به کاهش میزان MDA سرم خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با پاداکسندهٔ تجاری BHT شد (جدول ۶). کاربرد عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی به میزان ۱۵۰ ppm در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی منجر به ایجاد تأثیر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنزیم GPX و FRAP و کاربرد ۳ درصد تفاله، ۳ درصد آب انگور و عصارهٔ متانولی به میزان ۱۵۰ ppm باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD و به‌کارگیری آب انگور به میزان ۳ درصد و عصارهٔ متانولی به میزان ۱۵۰ ppm در جیره منجر به ایجاد تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان MDA سرم خون جوجه‌های گوشتی در مقایسه با گروه شاهد شده است (جدول ۶). رویارویی یاخته با تنش اکسایشی باعث می‌شودآنزیم‌های یادشده با یکدیگر به‌طور هم‌افزا (سینرژی) عمل می‌کنند و یک مجموعه آنزیمی محافظتی را تشکیل می‌دهند (Kono & Fridovich, 1982). بنابراین افزایش در میزان و فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی بیانگر سازگاری یاخته یا بافت با تنش ایجاد شده است (John *et al*., 2001). افزایش میزان آنزیم‌های یازشده نشان‌دهندهٔ افزایش غلظت پراکسیدهیدروژن و در نهایت نشان‌دهندهٔ وجود تنش اکسایشی در بدن مرغان است (Rahman & MacNee, 1996). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، در این بررسی تفاله، عصارهٔ آبی و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی فعالیت ضدرادیکالی و پاداکسندگی بالایی دارد که این امر ناشی از غنی بودن آن‌ها از ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی است. میزان بالای ترکیب‌های فنولی به‌طور مستقیم میزان توانایی تفاله، آب و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش می‌دهد، در واقع گیاهانی که ترکیب‌های فنولی بالاتری دارند فعالیت ضدرادیکال‌های آزاد بالاتری نیز از خود نشان می‌دهند (Arumugam *et al*., 2012). در غلظت‌های بالای ترکیب‌های فنولی به‌دلیل افزایش شمار گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و کاهش میزان آن‌ها در نتیجهٔ خنثی‌سازی افزایش می‌یابد که به دنبال آن توان مهارکنندگی تفاله، عصارهٔ آبی و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی به دلیل کاهش استفاده از آن‌ها به منظور فعالیت خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، افزایش می‌یابد (Zhang *et al*., 2009). در این تحقیق نیز تفاله، آب و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی به دلیل داشتن مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی، فعالیت ضدرادیکالی بالایی را نسبت به پاداکسندهٔ تجاری BHT نشان دادند. در واقع مجموعهٔ آنزیمی سوپراکسیددیسموتاز- گلوتاتیون- کاتالاز به‌علت تأثیر مهارکنندگی بر تشکیل رادیکال‌های اکسیژن و یا خنثی کردن آن‌ها با روش‌های گوناگون از جمله اهدای هیدروژن، جزء نخستین خطوط دفاعی یاخته در برابر آسیب‌های رادیکال‌های آزاد است (Michiels *et al*., 1994). در راستای این نتایج در گزارش Doostar & Mohajeri (2009) نیز مشخص شد عصارهٔ دانهٔ انگور در مقایسه با پاداکسندهٔ تجاری BHT باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون‌پراکسیداز و کاهش میزان شاخص پراکسایش چربیی یعنی مالون‌دی‌آلدئید در سرم خون موش‌های دیابتی شده است. در گزارش نتایج پژوهش دیگری کاربرد عصارهٔ انگور در خوراک موش‌های صحرایی و به دنبال آن تقویت دفاع پاداکسندگی از طریق افزایش میزان آنزیم‌های گلوتاتیون‌پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز اثبات شد (Irina *et al*., 2009). در نتایج پژوهشی دیگر نیز کاربرد تفالهٔ انگور در خوراک موش‌های صحرایی توان سامانهٔ پاداکسندگی بدن را افزایش داده و با افزایش آنزیم سوپراکسیددیسموتاز و نقش آن در دیسموتاسیون رادیکال اکسیژن به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تأثیر سودمند آن در بدن، اثبات شده است (Du *et al*., 2007). بررسی‌های صورت گرفته توسط Puiggros *et al.* (2009) نیز به توانایی عصاره و تفالهٔ انگور بر افزایش دفاع پاداکسندگی و مهار آسیب‌های ناشی از تنش‌های اکسایشی اشاره داشته است (Puiggros *et al*., 2009). در واقع فلاونوئیدها به‌عنوان یک عامل بسیار مهم در ترکیب عصاره و تفالهٔ انگور هستند که ترکیب‌های پروآنتوسیانیدین موجود در آن‌ها از عامل‌های مؤثر در بروز ویژگی‌های پاداکسندگی آن‌ها است (Puiggros *et al*., 2009). به همین منظور در بررسی کاربرد ۶ درصد کنسانترهٔ تفالهٔ انگور در جیرهٔ جوجه‌ها، منجر به افزایش فعالیت پاداکسندگی در بافت سینه شد (Brenes *et al*., 2008). از آنجایی‌که میزان

اکسایش با اندازه‌گیری شاخص مالون‌دی‌آلدئید انجام می‌شود و (MDA) یکی از آلدئیدهای مهم ناشی از پراکسایش چربی‌های غشا است (Esterbauer *et al*., 1991)، در نتایج تحقیقی نیز به تأثیر عصارهٔ انگور در کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید در سرم خون موش‌های صحرایی اشاره شده و محققان بیان کردند که مقادیر ۱۰۰-۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم از عصارهٔ انگور، ویژگی پاداکسندگی داشته و در حفاظت یاخته‌ای و مهار مرگ آن‌ها نیز نقش دارد (Irina *et al*., 2009). در واقع ترکیب‌های فنولی مختلف در میوه‌ها و سبزی‌ها به‌ویژه فلاونوئید، آنتوسیانین، کاتچین و اپی‌کاتچین موجود در تفاله، آب و عصارهٔ متانولی انگور، همکاری با آنزیم‌های دخیل در حذف رادیکال‌های فعال را افزایش داده که آن‌ها نیز به نوبهٔ خود موجب خنثی‌شدن پراکسیدهیدروژن و تبدیل هیدروپراکسیدهای چربی‌ها به مواد غیر سمی شده‌اند که با وجود نسبت بالای ترکیب‌های فنولی مختلف در انگور و مشتقات آن وجود چنین ویژگی در نتیجهٔ کاربرد آن در جیره نیز قابل انتظار است. در تفسیر ارتباط بین مواد مؤثرهٔ تفاله، عصارهٔ آبی و متانولی انگور و تقویت سامانهٔ پاداکسندگی بدن حیوانات، مشخص شده است که ترکیب‌های فعال موجود در تفاله و عصارهٔ آبی و متانولی موجب افزایش پایداری این آنزیم‌ها و کاربرد کمتر آن‌ها و در نتیجه تقویت سامانهٔ ایمنی می‌شود (Luna *et al*., 2010). به‌طورکلی می‌توان گفت افزایش میزان آنزیم‌های پاداکسندگی، سبب افزایش ظرفیت پاک‌سازی رادیکال آزاد در طیور می‌شود که میزان مالون دی آلدهید در سرم به‌عنوان محصول نهایی اکسایش چربی تا حد زیادی می‌تواند بیانگر میزان رادیکال آزاد باشد. در این آزمایش با کاهش میزان MDA که نشان‌دهندهٔ کاهش میزان اکسایش است، می‌توان نتیجه گرفت که آنزیم برای رویارویی با رادیکال آزاد، کمتر استفاده شده و در نتیجه، میزان مورد اندازه‌گیری‌شده در این گروه‌ها بیشتر است و در واقع کاربرد پاداکسندهٔ طبیعی در جیره سبب بهبود و تقویت سامانهٔ پاداکسندگی، کاهش میزان رادیکال آزاد و اکسایش می‌شود و به‌طورکلی ترکیب‌های فنولی می‌توانند رادیکال‌های آزاد را به دام انداخته و بازدارندهٔ ادامهٔ واکنش‌های زنجیره‌ای و تولید رادیکال‌های آزاد دیگری شوند (Alirezaei *et al*., 2012). در واقع افزایش در میزان آنزیم‌های پاداکسنده بیانگر سازگاری یاخته یا بافت مورد نظر با تنش ایجاد شده است (John *et al*., 2001) که در این آزمایش نیز دیده شد.

جدول ۵. مقایسهٔ تأثیر آب، تفاله و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی بر پاسخ‌های ایمنی در دوره‌های مختلف*

Table 5. Comparison of the effects of Juice, Pulp and Yaghooti Methanolic Extraction on Immune Responses of broiler at different periods*

Treatments	Influenza	Newcastle
Control	5.5^{b}	2.5^{b}
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	7.16^{a}	5^{a}
Yaghooti Grape Pulp	6.75^{ab}	4^{ab}
Yaghooti Grape Juice	6.41^{ab}	4.16^{ab}
BHT	6.16^{ab}	3.08^{ab}
SEM	0.33	0.50
Experimental Days		
d 21	5.03^{b}	4.10^{a}
d 42	7.76^{a}	3.40^{b}
SEM	0.20	0.24
P-Value		
Experimental treatments	0.04	0.04
Experimental Days	0.0001	0.004
Treatment × Day	0.97	0.64

* در هر ردیف بین میانگین‌های با حرف‌های متفاوت، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (۱۵۰ ppm)

تفالهٔ انگور یاقوتی (۳٪)

آب انگور یاقوتی (۳٪)

پاداکسندهٔ تجاری BHT (۲۰۰ ppm)

* Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05).

Yaghooti Grape Methanolic Extraction (150 ppm)

Yaghooti Grape Pulp (3%)

Yaghooti Grape Juice (3%)

BHT (200 ppm)

جمعیت باکتریایی رودهٔ کور

نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نشان داد، استفاده از عصارهٔ متانولی انگور به میزان ۱۵۰ ppm منجر به کاهش میزان سالمونلا، اشرشیاکولی و کلی‌فرم‌های موجود در رودهٔ کور جوجه‌های گوشتی شده است (جدول ۷). سازوکار عمده و اصلی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های‌گیاهی، تخریب دیوارهٔ یاخته‌ای، آسیب به غشای سیتوپلاسمی و پروتئین‌های ساختاری در غشاء، نشت محتوای درون یاخته‌ای و در نتیجه مرگ یاختهٔ باکتری توسط ترکیب‌های فنولی بیان شده است (Negi, 2012). ترکیب‌های فنولی موجود در عصاره‌های گیاهی فعالیت ضدمیکروبی قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهند و قابلیت ضدمیکروبی آن‌ها، محیط روده را

متعادل می‌سازد (Si *et al*., 2006). در نتیجه کاربرد فرآورده‌های طبیعی به‌عنوان مواد ضدباکتریایی، روشی مناسب برای مهار حضور باکتری‌های پاتوژن در بدن پرنده و نیز افزایش سلامتی شده است که با نتایج به دست‌آمده از این آزمایش همخوانی دارد (Almajano *et al*., 2008). در پژوهشی دیگر نیز کاربرد سطوح مختلف عصارهٔ کاسنی در جیرهٔ جوجه‌های گوشتی که مانند عصارهٔ انگور ترکیب‌های آنتوسیانین و فلاونوئید دارد، در مقایسه با پاداکسندهٔ تجاری BHT با ویژگی پاداکسندگی و ضدباکتریایی خود منجر به تأثیر معنی‌داری بر کاهش میزان باکتری‌های اشرشیاکولی در رودهٔ کور جوجه‌ها شد (Taraz *et al*., 2016). از جمله ویژگی‌هایی که برای انگور بیان شده است، ویژگی میکروب‌کشی آن است و وجود چنین افزودنی‌هایی در جیرهٔ غذایی تأثیر مثبت بر کاهش میکروب‌های دستگاه گوارش داشته و با کاهش جمعیت میکروبی زیانبار از تجزیهٔ اسیدهای آمینهٔ غذا جلوگیری کرده و با جذب بهتر، این اسیدهای آمینه برای ساخت بافت‌های پروتئینی مصرف می‌شوند. در واقع وجود انگور و مشتقات ناشی از آن در جیره‌های غذایی در کاهش جمعیت میکروب‌های بیماری‌زای انتهای دستگاه گوارش در پرندگان اهمیت دارد (Margeretha *et al*., 2012).

جدول ۶. تأثیر پاداکسندگی آب، تفاله و عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی بر شاخص‌های پاداکسندگی در دوره‌های مختلف*

Table 6. Effect antioxidant yaghooti grape methanolic extraction, pulp and juice on antioxidant index in broilers at different times*

Treatments	SOD (mg/dl)	GPx (mg/dl)	MDA (mg/dl)	FRAP (mg/dl)
d 21				
Control	29.19^{b}	57.03^{b}	0.88^{a}	1.47^{b}
Yaghooti Grape Methanolic Extracti	36.24^{a}	67.80^{a}	0.52^{b}	2.16^{a}
Yaghooti Grape Pulp	36.04^{a}	66.67^{a}	0.61^{ab}	2^{a}
Yaghooti Grape Juice	36.66^{a}	66.66^{a}	0.63^{ab}	1.97^{a}
BHT	30^{b}	60.55^{ab}	0.85^{a}	1.41^{b}
SEM	0.84	1.91	0.06	0.07
P-Value	0.0001	0.009	0.01	0.0002
d 42				
Control	24.37^{c}	52.28^{b}	1.07^{a}	1.50^{b}
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	31.81^{a}	61.67^{a}	0.83^{bc}	2.64^{a}
Yaghooti Grape Pulp	30.28^{ab}	60.10^{ab}	0.90^{abc}	2.01^{ab}
Yaghooti Grape Juice	30.66^{ab}	58.50^{ab}	0.79^{c}	1.99^{ab}
BHT	26.33^{bc}	56.46^{ab}	1.01^{ab}	1.50^{b}
SEM	0.99	1.86	0.04	0.14
P-Value	0.001	0.03	0.007	0.001

* Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05).

* در هر ردیف بین میانگین‌های با حرف‌های متفاوت، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

Yaghooti Grape Methanolic Extraction (150 ppm) — عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (۱۵۰ ppm)

Yaghooti Grape Pulp (3%) — تفالهٔ انگور یاقوتی (۳٪)

Yaghooti Grape Juice (3%) — آب انگور یاقوتی (۳٪)

BHT (200 ppm) — پاداکسندهٔ تجاری BHT (۲۰۰ ppm)

جدول ۷. مقایسهٔ تأثیر تیمارهای آزمایشی بر شمارش باکتری‌های رودهٔ کور در جوجه‌های گوشتی در دوره‌های مختلف*

Table 7. Comparison of the effects Experimental treatments on Bacterial Count of broiler at different periods* (log_{10} cfu/g)

Treatments	Salmonella	E. coli	Coliform
d 21			
Control	7.97	7.14	6.56
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	7.49	7.07	6.46
Yaghooti Grape Grape Pulp	8.14	7.21	6.36
Yaghooti Grape Juice	7.97	6.96	6.19
BHT	7.52	7.34	7.12
SEM	0.29	0.28	0.26
P-Value	0.10	0.12	0.31
d 42			
Control	7.33^{ab}	8.76^{b}	6.79^{ab}
Yaghooti Grape Methanolic Extraction	6.88^{b}	8.15^{b}	6.56^{b}
Yaghooti Grape Pulp	7.10^{b}	9.06^{a}	6.64^{ab}
Yaghooti Grape Juice	7.71^{a}	8.95^{a}	6.95^{a}
BHT	7.85^{a}	9.19^{a}	7.15^{a}
SEM	0.26	0.18	0.17
P-Value	0.04	0.009	0.03

* Means within same row with different superscripts differ (p< 0.05).

* در هر ردیف بین میانگین‌های با حرف‌های متفاوت، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵).

Yaghooti Grape Methanolic Extraction (150 ppm) — عصارهٔ متانولی انگور یاقوتی (۱۵۰ ppm)

Yaghooti Grape Pulp (3%) — تفالهٔ انگور یاقوتی (۳٪)

Yaghooti Grape Juice (3%) — آب انگور یاقوتی (۳٪)

BHT (200 ppm) — پاداکسندهٔ تجاری BHT (۲۰۰ ppm)

نتیجه‌گیری کلی

در این بررسی کاربرد ۱۵۰ ppm عصارهٔ متانولی انگور باعث افزایش عیار (تیتر) پادتن علیه ویروس آنفلوآنزا و نیوکاسل شد. از سویی به‌کارگیری این میزان از عصارهٔ متانولی انگور سبب کاهش میزان باکتری‌های سالمونلا و اشرشیاکولی و کلی‌فرم‌های موجود در ناحیهٔ رودهٔ کور شده است. از سویی در افزایش میزان سرمی آنزیم‌های SOD، GPX و FRAP و کاهش میزان MDA در سرم جوجه‌های گوشتی مؤثر بوده است، لذا با توجه به نتایج به‌دست‌آمده می‌توان عصارهٔ متانولی انگور در دُز ۱۵۰ ppm را جایگزین مناسبی برای پاداکسندهٔ تجاری BHT در طیور گوشتی پیشنهاد داد.

سپاسگزاری

این بررسی با همکاری مسئول آزمایشگاه تغذیهٔ گروه علوم‌دامی و حمایت‌های مالی پژوهشکدهٔ کشمش و انگور دانشگاه ملایر انجام شده است و نویسندگان مقاله بر خود لازم دانسته که از همهٔ کسانی‌که در انجام این بررسی همکاری کردند، قدردانی کنند.

REFERENCES

1. Abdolkarimi, R. & Daneshyar, M. (2010). Effects of various levels of Tymuse Vulgarise extract on immune system of broiler chickens. *Journal Animal Science*, 52(1), 172-174. (in Farsi)
2. Akowuah, G. A., Ismail, Z., Norhayati, I. & Sadikun, A. (2005). The effects of different extraction solvents of varying polarities on polyphenols of Orthosiphon stamineus and evaluation of the free radical-scavenging activity. *Journal Food Chemistry*, 93(2), 311-317.
3. Alipour, D. & Rouzbehan, Y. (2007). Effects of ensiling grape pomace and addition of Polyethylene glycol on invitro gas production and microbial biomass yield. *Journal Animal Feed Science and Technology*, 137(2), 138-149.
4. Alirezaei, M., Dezfoulian, O., Kheradmand, A., Neamati, S., Khonsari, A. & Pirzadeh, A. (2012). Hepatoprotective effects of purified oleuropein from olive leaf extract against ethanol-induced damages in the rat. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 13(3), 218-226.
5. Almajano, M. P., Carbo´, R., Jime´nez, AL. & Gordon, M. H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Journal Food chemistry*, 108(1), 55-63.
6. AOAC. (1990). *Association of Official Analytical Chemists*, 15th ed. AOAC, Washington, D.C., USA.
7. Arumugam, P., Ramamurthy, P. & Ramesh, A. (2012). Antioxidant and Cytotoxic Activities of Lipophilic and Hydrophilic Fractions of Mentha Spicata L. (*Lamiaceae*). *International Journal of Food Properties*, 13(1), 1465-1475.
8. Bagchi, D., Sen, C. K., Ray, S. D., Das, D. K., Bagchi, M. & Preuss, H. G. (2003). Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Journal Mutation research*, 523(12), 87-97.
9. Bahrami, Y., Foroozandeh, A. D., Zamani, F., Modarresi, M., Eghbal-Saeid, S. & Chekani-Azar, S. (2010). Effect of diet with varying levels of dried grape pomace on dry matter digestibility and growth performance of male lambs. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 6(1), 605-610.
10. Brenes, A., Viveros, A., Goni, I., Centeno, C., Sayago-Ayerdy, S. G., Arija, I. & SauraCalixto, F. (2008). Effect of grape pomace concentrate and vitamin E on digestibility of polyphenols and antioxidant activity in chickens. *Journal Poultry Science*, 87(2), 307-316.
11. Doostar, Y. & Mohajeri, D. (2009). Antioxidant effect of extract the grape seed in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of research in medical sciences*, 12(1), 38-44. (in Farsi)
12. Du, Y., Guo, H. & Lou, H. (2007). Grape seed polyphenols cardiac cells from apoptosis via induction of endogenous antioxidant enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 1695-1701.
13. Ertas, O. N. Guler, T. Ciftci, M. Dalkilic, B. & Simsek, U. G. (2005). The effect of an essential oil Mix Derived from organo, clove and Anis on Broiler Performance. *Journal of Poultry Science*, 4(5), 879-884.
14. Esterbauer, H., Schaur, R. J. & Zoliner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11(1), 81-128.
15. Fasseas, M. K. K. C., Mountzouris, P., Tarantilis, A., Polissiou, M. & Zervas, G. (2007). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Journal Food Chemistry*, 106(3), 1188-1194.
16. Ghalamkari, G. H., Toghyani, M., Tavalaeian, E., Landy, N., Ghalamkari, Z. & Radnezhad, H. (2011). Efficiency of different levels of *Satureja hortensis* L. (Savory) in comparison with an antibiotic growth promoter on performance, carcass traits, immune responses and serum biochemical parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(61), 13318-13323.

17. Goel, V., Chang, C., Slama, J. V., Barton, R., Bauer, R., Gahler, R. & Basu, T. K. (2002). Alkylimides of Echinacea purpurea stimulate alveolar macrophage function in normal rats. *International Journal of Immunopharmacology*, 2(3), 381-387.
18. Irina, C. C., Marius, I. U. & Adriana, M. (2009). Antioxidant effects of grape seed extractin a rat model of diabetes mellitus. *Diabetes and vascular research*, 6(3), 200-204.
19. John, S., Kale, M., Rathore, N. & Bhatnagar, D. (2001). Protective effect of vitamine E in dimethoate and Malathion induced oxidative stress in rat erythrocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12(9), 500-504.
20. Kang, H. J., Chawla, S. P., Jo, C., Kwon, J. H. & Byun, M. W. (2006). Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresource Technology*, 97(4), 614-620.
21. Kennedy, J. A. (2008). Grape and wine phenolics: observations and recent findings. *Food Science and Technology*, 35(2), 107-120.
22. Kono, Y. & Fridovich, I. (1982). Superoxide radical inhibits catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 257(10), 5751-5754.
23. Luna, A., Lábaque, M. C., Zygadlo, G. A. & Marin, R. M. (2010). Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Journal of Poultry Science*, 89(2), 366-370.
24. Marin, F. R., Rivas, C., Garcia, O. B., Castillo, J. & Perez-Alvarez J. A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibers. *Journal Food Chemistry*, 100(2), 736-741.
25. Margeretha, I., Suniarti, D., Herda, E. & Alim Masud, Z. (2012). Optimization and comparative study of different extraction methods of biologically active components of Indonesian propolis Trigona spp. *Journal of Natural Products*, 5(28), 233-242.
26. Michiels, C., Raes, M., Toussaint, O. & Remacle, J. (1994). Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell cervival against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 17(3), 235-48.
27. Najifi, p. & Torki, M. (2010). Performance, blood metabolitesand immunecompetance of broiler chicks fed diets included essentialoils of medicinal herbs. *Journal of Animal and veterinary Advances*, 5(9), 1164-1168.
28. Negi, P. S. (2012). Review Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 7-17.
29. Payvastagan, S., Farhoomand, P., Shahrooz, R., Delfani, N. & Talatapeh, A. (2012). The effects of different levels of canola meal and copper on performance, susceptibility to ascites and plasma enzyme activities in broiler chickens. *Journal Animals of biological research*, 5(2), 5252-5258.
30. Puiggros, F., Sala, E. & Vaqué, M. (2009). In Vivo, in Vitro, and in Silico Studies of Cu/Zn-Superoxide Dismutase Regulation by Molecules in Grape Seed Procyanidin Extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3934-3942.
31. Rahman, I. & MacNee, W. (1996). Role of oxidants/ antioxidants in smoking-induced lung diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 21(5), 669-681.
32. RehaniMohassess, A. (2011). Effect of different levels of Mentha and Ajowan on performance and carcass characteristics of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 16(3), 12-18.
33. Rouzbehan, Y., Alipour, D., Bazegar, M. & Azizi, M. H. (2008). Antioxidant activity of phenolic compounds of grape pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 5(3), 69-74. (in Farsi)
34. Safa, M. A. (2014). Effect of using ginger powder as natural feed additive on performance and carcass quality of broiler chicks. *Journal of Poultry Science*, 6(3), 231-242.
35. Sahin, K., Sahin, N. & Kucuk, O. (2003). Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32 ◦C). *Journal Nutrition Research*, 23(2), 225-238.
36. Saleh, H., Golian, A., Kermanshahi, H., TaherMirakzehi, M. & Agah, M. J. (2015). Effect of natural antioxidant on the immune response, antioxidant enzymes and hematological broilers chickens. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11(3), 67-79. (in Farsi)
37. Sarica, S., Ciftci, A., Demir, E., Kilinc, K. & Yildirim, Y. (2005). Use of antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 35(1), 61-72.
38. Svensson, E. Sinervo, B. & Comendant, T. (2001). Density dependent competition and selection on immune function in genetic lizard morphs. *Journal Proceeding National Academy Science*, 55(2), 2053-2069.
39. Si, W., Gong, J., Tsao, R., Zhou, T., Yu, H., Poppe, C., Johnson, R. & Du, Z. (2006). Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 100(2), 296-305.

40. Taraz, Z., ShamsShargh, M., Samadi, F., Ebrahimi, P. & Zerehdaran, S. (2016). Comparing antibacterial effect of different extracts of chicory (*Cichorium intybus* L.) and its effects on nutrient digestibility and gastrointestinal microflora population in broiler chicks exposed to heat stress. *Animal Production Research*, 4(4), 37-45. (in Farsi)
41. Wang, L., Piao, X. L., Kim, S. W., Piao, X. S., Shen, Y. B. & Lee, H. S. (2008). Effects of Forsythia suspensa extract on growth performance, nutrient digestibility, and antioxidant activities in broiler chickens under high ambient temperature. *Journal Poultry Science*, 87(7), 1287-1294.
42. Williams, G. M., Iatropoulos, M. J. & Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxyl toluene as antioxidant food additives. *Journal Food and Chemical Toxicol*ogy, 37(9), 1027-1038.
43. ZareZade, S., OostaeiAli Mehr, M., Alizadeh, A. R. & MohammadiGhysar, M. (2013). The effect of the addition of green tea and fish oil to diet of broiler on the performance and response of humoral immunity against Newcastle. *Journal Animal Production Research*, 1(4), 1-13. (in Farsi)
44. Zengting, S., Xiaofang, D., Jianming, T. & Zhihong, W. (2013). In Sacco evaluation of ruminal degradability of waste vinegar residue as a feedstuff for ruminants. *Journal Animal Production Sci*ence, 53(4), 292-298.
45. Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T. & Wang, Z. (2009). Antioxidant phenolic compounds from Walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Journal Food Chemistry*, 113(1), 160-165.
46. Zomaravwi, W. B. (2013). Respons of broiler chicks and laying hens to dieatery ginger (*Ziangbir officinal*) root powder. Thesis submitted to university of Khartoum in fulfillment of requirements for the degree of doctor of philosophy in poultry production. *Journal Poultry Science*, 7(4), 127-143.