



Effect of nano folic acid and folic acid on mortality rate and homocysteine concentration in broiler chickens

Ebrahim Shahraki^{1✉} , Mohammad Kazemi Fard² , Mansour Rezaei³ ,
Zarbakht Ansari Piersaraei⁴ , Mahmoud Barani⁵ 

1. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: eb.shahraki@gmail.com
2. Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: mo.kazemifard@gmail.com
3. Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: mrezaei2000@yahoo.com
4. Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. Email: z.ansari@yahoo.com
5. Mycology and Medical Bacteriology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran. Email: mahmoodbarani7@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	The aim of this study was to investigate and compare the effect of nano folic acid supplementation and folic acid in reducing serum homocysteine level, mortality rate and some blood biochemical parameters in broiler chickens. A total of 250 male broiler chickens of Ross 308 hybrid were implemented for 42 days as a completely randomized design in a 2x2 factorial format with five treatments and five replications and ten chickens in each replication. Treatments include: 1) control ration, 2) Folic acid-free diet with folic acid supplement (4 mg per liter of water) in non-nano form, 3) Folic acid-free diet with folic acid supplement (4 mg per liter of water) in nano form, 4) control diet with folic acid supplement (4 mg per liter of water) in non-nano form, 5) Control diet with folic acid supplement (4 mg per liter of water) were in nano form. After six weeks, serum samples were collected and analyzed for homocysteine concentration. The results showed that regular folic acid significantly decreased homocysteine concentration in serum and decreased mortality ($P<0.05$), but in nano folic acid treatment, this reduction was more than other treatments. The interaction effect of nano folic acid and regular folic acid supplements significantly reduced serum homocysteine levels compared to the control ($P<0.05$). But in the control treatment, it had the highest level of homocysteine concentration and the highest mortality. Also, nano folic acid and folic acid significantly decreased the activity of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase compared to the control treatment ($P<0.05$). But it had no significant effect on the activity of alkaline phosphatase. In addition, folic acid and nano folic acid significantly increased the concentration of thyroid hormones (T3 and T4) compared to the control treatment ($P<0.05$). Therefore, we conclude that nano folic acid is more effective than normal folic acid in reducing the concentration of homocysteine in blood circulation and may be a promising alternative to optimize homocysteine metabolism and reduce cardiovascular risks associated with mortality in broilers.
Article history: Received: 12 November 2023 Received in revised form: 8 November 2024 Accepted: 10 November 2024 Published online: Summer 2025	
Keywords: <i>Folic acid, broiler, homocysteine, sudden death syndrome, nano folic acid.</i>	

Cite this article: Shahraki, E., Kazemi Fard, M., Rezaei, M., Ansari Piersaraei, Z. & Barani, M. (2025). Effect of nano folic acid and folic acid on mortality rate and homocysteine concentration in broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science*, 56 (2), 283-300. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.367860.653973>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.367860.653973>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

The purposes of using vitamins in the poultry industry are to maintain normal cellular function, health and prevention of diseases in the body. Since group B vitamins, especially folic acid, are used on a small scale in poultry feed, they may be destroyed due to improper storage conditions or heat from cooking in feed factories. Therefore, in order to solve this problem in the diet of broiler chickens, this nutrient must be fortified and the bioactive substance of the food must be protected. Existing techniques for encapsulation of nutrients or active ingredients include spray-drying microencapsulation, extrusion encapsulation, fluidized bed coating, colocalization, molecular encapsulation using liposome encapsulation, and hydrogel encapsulation. Therefore, the aim of this study was to investigate and compare the effect of Nano folic acid supplementation and regular folic acid in reducing homocysteine level and mortality rate in broiler chickens.

Materials and methods

In this study, in total, 250 one-day-old broiler chickens of the Ross 308 commercial strain were distributed into five groups and five replications with 2 x 2 factorial method in the form of a completely random design, and ten broiler chickens in each replication. The groups are: 1) control diet (with folic acid), 2) diet without folic acid with folic acid in water (4 mg/L) in non-Nano form, 3) diet without folic acid with folic acid in water (4 mg/L) in the form of nanoliposomes, 4) the control diet with folic acid in water (4 mg/L) in non-nano form, 5) the control diet with folic acid in water (4 mg/L) in the form of nanoliposomes. Birds had free access to food and water and received 23 hours of light per day. The initial rearing temperature was set at 33°C and decreased by 2°C weekly. The experiment lasted 6 weeks. There were three diets consisting of starter, grower and finisher that were fed as mass, which was based on corn/soybean meal that met the nutrient requirements determined by the NRC (1994) of the commercial hybrid Ross 308 with and without folic acid supplementation prepared.

Results and discussion

The effect of the form of folic acid consumption was significant on the reduction of homocysteine concentration and mortality, but the consumption form of nano folic acid caused a significant reduction of homocysteine and mortality. Also, the treatment of nano folic acid in the amount of 4 mg/kg along with the control diet significantly reduced homocysteine and mortality compared to the control group ($p < 0.05$). The control diet along with folic acid in water (4 mg/L) reduced homocysteine and mortality in non- nano form compared to the control group. Also, the control diet along with folic acid in water (4 mg/L) in nano form significantly reduced the percentage of homocysteine and mortality compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusions

The present study shows that nano folic acid and regular folic acid are the most effective vitamin B9 for reducing high plasma homocysteine concentration and reducing losses in broiler chickens. Nano folic acid showed significantly better efficacy than conventional folic acid due to its smaller particle size and higher bioavailability.

Author Contributions

For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used “Conceptualization, X.X. and Y.Y.; methodology, X.X.; software, X.X.; validation, X.X., Y.Y. and Z.Z.; formal analysis, X.X.; investigation, X.X.; resources, X.X.; data curation, X.X.; writing—original draft preparation, X.X.; writing—review and editing, X.X.; visualization, X.X.; supervision, X.X.; project administration, X.X.; funding acquisition, Y.Y. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.” Please turn to the [CRediT](#) taxonomy for the term explanation. Authorship must be limited to those who have contributed substantially to the work re-reported.

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data Availability Statement

In this section, please provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study (see [examples](#)). Data available on request from the authors.

If the study did not report any data, you might add “Not applicable” here.

Acknowledgements

The *Acknowledgements* section should be a few sentences at the end, but it is important to recognize those people (organizations and individuals) who made considerable impact on the research, provided *significant* help to the author to formulate and complete the experiment, and improved the research at any stage (from providing access to equipment or field sites to editing the manuscript). However, this is an optional section.

In this section, you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind (e.g., materials used for experiments).

The authors would like to thank all participants of the present study.

Ethical considerations

The study was approved by the Ethics Committee of the University of ABCD (Ethical code: IR.UT.RES.2024.500). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

تأثیر نانو اسید فولیک و اسید فولیک بر میزان مرگ و میر و غلظت هموسیستئین در جوجه‌های گوشتی

ابراهیم شهرکی^۱ | محمد کاظمی فرد^۲ | منصور رضایی^۳ | زریخت انصاری پیرسرائی^۴ | محمود بارانی^۵

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: eb.shahraki@gmail.com
۲. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: mo.kazemifard@gmail.com
۳. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: mrezaei2000@yahoo.com
۴. گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: zarbakht_ansari@yahoo.com
۵. مرکز تحقیقات قارچ شناسی و باکتریولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mahmoodbarani7@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر مکمل اسید فولیک نانو و اسید فولیک بر غلظت هموسیستئین سرم، میزان تلفات و برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون در جوجه‌های گوشتی بود. تعداد ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی نر از سویه راس ۳۰۸ به مدت ۴۲ روز در قالب طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل ۲×۲ با پنج تیمار و پنج تکرار و ده قطعه جوجه در هر تکرار اجرا شد. تیمارها شامل: (۱) جیره شاهد، (۲) جیره بدون اسید فولیک با مکمل اسید فولیک (۴ میلی گرم در لیتر آب)، به شکل غیر نانو، (۳) جیره بدون اسید فولیک با مکمل اسید فولیک (۴ میلی گرم در لیتر آب) به شکل نانو، (۴) جیره شاهد با مکمل اسید فولیک (۴ میلی گرم در لیتر آب) به شکل غیر نانو، (۵) جیره شاهد با مکمل اسید فولیک (۴ میلی گرم در لیتر آب) به شکل نانو. پس از شش هفته، نمونه‌های سرم جمع آوری و از نظر غلظت هموسیستئین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین وزن جوجه‌های گوشتی در تیمار جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانو و تیمار جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل غیر نانو، در مقایسه با گروه شاهد در دوره‌های رشد و پایانی به طور معنی داری بیشتر بود، همچنین وزن تیمار جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانو به نسبت خوراک دریافتی بیشتر بود. به طوری که در دوره‌های رشد و پایانی، نانو اسید فولیک باعث کاهش معنی داری در ضریب تبدیل غذایی شد ($p < 0.05$). همچنین نتایج نشان داد که اسید فولیک معمولی باعث کاهش معنی دار غلظت هموسیستئین سرم و کاهش مرگ و میر شد ($p < 0.05$)، اما در تیمار نانو اسید فولیک این کاهش معنی داری بیشتری داشت ($p < 0.05$). اثر متقابل نانو اسید فولیک و اسید فولیک معمولی به طور معنی داری باعث کاهش غلظت هموسیستئین سرم نسبت به شاهد شد ($p < 0.05$). اما در تیمار شاهد بیشترین غلظت هموسیستئین و بیشترین میزان مرگ و میر را داشت. همچنین نانو اسید فولیک و اسید فولیک معمولی باعث کاهش معنی داری غلظت آلانین آمینوترانسفراز و آسپاراتات آمینوترانسفراز نسبت به تیمار شاهد شدند ($p < 0.05$). اما بر غلظت آلکالین فسفاتاز اثر معنی داری نداشت. علاوه بر این، اسید فولیک و اسید فولیک نانو به طور معنی داری غلظت هورمون‌های تیروئید (T_3 و T_4) را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند ($p < 0.05$). بنابراین، نتیجه می‌گیریم که اسید فولیک نانو به عنوان اثر اصلی و جیره شاهد با مکمل اسید فولیک (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانو به عنوان اثر متقابل در کاهش غلظت هموسیستئین در گردش خون مؤثرتر از اسید فولیک معمولی و جیره شاهد است و ممکن است یک جایگزین امیدوارکننده برای بهینه‌سازی متابولیسم هموسیستئین و کاهش خطرات قلبی عروقی مرتبط با مرگ و میر (یازده قطعه جوجه) در جوجه‌های گوشتی باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۲۱	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۸/۱۸	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۲۰	
تاریخ انتشار: تابستان ۱۴۰۴	
کلیدواژه‌ها:	اسید فولیک، جوجه گوشتی، هموسیستئین، مرگ و میر، نانو اسید فولیک.

استناد: شهرکی، ابراهیم؛ کاظمی فرد، محمد؛ رضایی، منصور؛ انصاری پیرسرائی، زریخت و بارانی، محمود (۱۴۰۴). تأثیر نانو اسید فولیک و اسید فولیک بر میزان مرگ و میر و غلظت هموسیستئین در جوجه‌های گوشتی. نشریه علوم دامی ایران، ۵۶ (۲)، ۲۸۳-۳۰۰. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.367860.653973>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2024.367860.653973>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

اسید فولیک یا فولات یک ویتامین ریز مغذی و ضروری مورد نیاز بدن است که هر سلولی برای فعالیت بیولوژیکی یا زیستی به آن نیاز مبرم دارد. جانداران اسید فولیک را از سبزیجات، علف‌ها، برگ‌های سبز، قارچ‌ها، مخمرها و مرکبات دریافت می‌کنند (Hassing *et al.*, 1999). فولاسین مورد نیاز برای جوجه‌های گوشتی، ۰/۲ میلی گرم در کیلوگرم می‌باشد. به طور کلی، ویتامین‌های محلول در آب عمدتاً به عنوان کوآنزیم‌هایی عمل می‌کنند که واکنش‌های آنزیمی را تسریع می‌کنند (Basu & Dickerson, 1996). در بسیاری از مسیرهای حیاتی بیوشیمیایی و تولید انرژی شرکت می‌کنند (Leskova, 2006). اسید فولیک پایدارترین شکل مصنوعی ویتامین B9 است که نقش مهمی در متابولیسم اسیدهای آمینه، بیوسنتز اسید نوکلئیک، کاتابولیسم هیستیدین و به عنوان یک کوفاکتور مهم در مسیر متیلاسیون مجدد هموسیستئین به متیونین، ایفای نقش می‌کند (Kim, 2007). هموسیستئین (۲-آمینو ۴- مرکاپتوبوتیریک اسید) یک اسید آمینه غیر پروتئینی و سولفوردار است که طی متابولیسم طبیعی از اسید آمینه ضروری متیونین تشکیل می‌شود (Blancquaert, 2013). افزایش سطح هموسیستئین در گردش خون بالا با افزایش خطر بیماری قلبی و عروقی در انسان مرتبط است که به عنوان کشنده‌ترین بیماری در کشورهای در حال توسعه می‌باشد و پنجاه درصد مرگ‌های قلبی و عروقی رو به خود اختصاص داده است (Boushey *et al.* 1995). هموسیستئین تولید شده طی مکانیسمی دو مسیر را طی می‌کند در مسیر اول هموسیستئین به کمک آنزیم سیستاتینوین سنتاز به سیستئین تبدیل می‌شود و در مسیر دوم هموسیستئین به وسیله آنزیم متیونین سنتاز و در حضور کوآنزیم متیل کوبالامین با دریافت ریشه متیل از اسید فولیک مجدداً به متیونین تبدیل می‌شود و از این طریق بخش قابل توجهی از متیونین مورد نیاز بدن جوجه‌های گوشتی تامین می‌شود (Bhalerao *et al.*, 2014).

طی تحقیقات متعددی محققین گزارش کردند که احتمالاً یکی از دلایل غلظت بالای هموسیستئین سرم در جوجه‌های گوشتی، تغذیه با جیره‌های حاوی متیونین بالا می‌باشد، همچنین افزایش هموسیستئین باعث تنش اکسیداتیو و التهاب می‌شود که می‌تواند منجر به اختلال عملکرد اندوتلیال (سلول‌های لایه درون رگی) و آترواسکلروز (سفت و سخت شدن رگ‌ها) می‌شود (Bhalerao *et al.*, 2014). هموسیستئین یک متابولیت سمی متیونین است که مکانیسم سمیت هموسیستئین در جوجه‌های گوشتی توسط پرنا و همکارانش مورد تایید قرار گرفته است (Bhalerao *et al.*, 2014). غلظت هموسیستئین پلاسمای خون یکی از مهم‌ترین شاخص‌های عملکردی برای ارزیابی وضعیت اسید فولیک، می‌باشد (Bhalerao *et al.*, 2014). برای کاهش غلظت هموسیستئین و افزایش متابولیسم آن استفاده از ترکیبات مختلفی از قبیل اسید فولیک، ویتامین‌های B12، B6 و بتائین روی انسان با موفقیت انجام شده است و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی به طور قابل توجهی کاهش یافت (Emmert *et al.* 1996; Kang, 1996). مرگ و میر (بدون علائم بیماری) به عنوان یک بیماری متابولیک غیر عفونی در جوجه‌های گوشتی در همه کشورها پذیرفته شده است (Olkowski and Classen 1995; Olkowski *et al.* 1996). بیماری قلبی و عروقی در جوجه‌های گوشتی سریع‌الرشد با کمبود ویتامین B9 شیوع بیشتری دارد (Bowes *et al.* 1988; Volk *et al.* 1974). محدودیت غذایی در جوجه‌های گوشتی و استفاده از دوره‌های پرورش طولانی مدت یکی از راه‌حل‌های موفق در درمان بیماری‌های متابولیک است که در این صورت باعث کاهش سرعت رشد و در نتیجه ایجاد تقاضای کمتری برای سیستم قلبی عروقی می‌شود (Bowes *et al.*, 1988; Classen *et al.*, 1991).

تحقیقات متعددی نشان می‌دهد که مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی که استعداد بالای در رشد دارند به التهاب عضله قلب دچار می‌شوند، و التهاب عضله قلب در جوجه‌های گوشتی باعث می‌شود که ضربان قلب آنها به شدت افزایش پیدا کند (Krate *et al.*, 1999). عامل یا عوامل بیماری‌زای که منجر به مرگ و میر ناگهانی می‌شوند باعث نامنظم شدن ضربان قلب در جوجه‌های گوشتی که دارای رشد سریع هستند شده، و سپس برای اینکه دچار این بیماری نشوند باید نرخ رشد در جوجه‌های گوشتی محدود شود (Oikowski and Classen, 1998). آرونسون و همکاران گزارش دادند که میزان مرگ و میر با افزایش غلظت هموسیستئین و بیماری‌های قلبی و عروقی افزایش پیدا می‌کند که یک رابطه خطی بین آنها وجود دارد (Aronson *et al.*,)

1994). به نظر می‌رسد با افزایش غلظت هموسیستئین، میزان مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد، بنابراین بین غلظت هموسیستئین و مرگ و میر نیز یک رابطه خطی است.

تحقیقات آسیب‌شناسی نشان داد که مرگ و میر به احتمال زیاد، با برخی از نارسایی‌های سیستم قلبی و عروقی و تحلیل رفتن عضله قلب همراه است (Kawada et al., 1994). بنابراین، مرگ و میر بدون علائم و نشان به عنوان یک بیماری قلبی عروقی پیشنهاد شده است (Husseiny, 1981). کاهش غلظت هموسیستئین با کاهش تلفات در جوجه‌های گوشتی مرتبط می‌باشد. همچنین اسید فولیک در کنار ویتامین C به عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای جلوگیری از اثرات مخرب متابولیت‌های بافتی در حالت تنش و غیر تنش کاربرد دارد (Gouda et al., 2020). جوجه‌های گوشتی برای حمایت از سرعت رشد سریع خود، نیاز زیادی به اسید فولیک دارند. با این حال، جیره‌های تجاری مدرن ممکن است همیشه سطوح کافی از این ویتامین را تامین نکنند. مکمل جیره غذایی جوجه‌های گوشتی با اسید فولیک ممکن است به بهینه‌سازی سطح آنزیم‌های کبدی و سلامت کبد کمک کند. از کبد در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت کند و نشت آنزیم‌های کبدی را به خون کاهش دهد (Bagley & Milne et al., 1984; Shane, 2005). در سال‌های اخیر، فناوری نانو ذرات برای بهبود زیست‌فراهمی و کارایی افزودنی‌های خوراک استفاده شده است. ذرات نانو اسید فولیک دارای اندازه کوچکتر و سطح بزرگتری هستند که در مقایسه با اسید فولیک معمولی حلالیت و جذب را بهبود می‌بخشد. مطالعات متعددی برای ارزیابی اثرات مکمل اسید فولیک در جیره جوجه‌های گوشتی انجام شده است. فولاسین عاملی برای پیشگیری از کم‌خونی در کبد جوجه‌ها می‌باشد که کمبود آن علاوه بر کم‌خونی، حجم گلبول‌های قرمز با توجه به حجم خون و درصد هموگلوبین خون کاهش می‌یابد (Hogan & Parot, 1939). مکمل اسید فولیک در جیره جوجه‌های گوشتی، مصرف خوراک را به‌طور معنی‌داری افزایش داد (House et al., 2002). مکمل اسید فولیک منجر به افزایش وزن و اندازه تخم‌مرغ در مرغ‌های تخمگذار جوان شد (Jing et al., 2014). جیره‌های غذایی دارای کمبود اسید فولیک در موش‌ها می‌تواند متابولیسم لیپید را در فرزندان آنها افزایش دهد (Kumar et al., 2013). بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه اثر مکمل اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی در کاهش غلظت هموسیستئین سرم، میزان مرگ و میر، برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون و هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4) در جوجه‌های گوشتی بود.

روش‌شناسی پژوهش

این مطالعه در مجموع با ۲۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه راس ۳۰۸ تجاری با روش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج گروه و پنج تکرار و ده قطعه جوجه گوشتی در هر تکرار توزیع شدند. گروه‌ها عبارتند از: ۱) جیره شاهد (دارای اسید فولیک)، ۲) جیره فاقد اسید فولیک به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل غیر نانو، ۳) جیره فاقد اسید فولیک به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانولیپوزوم، ۴) جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل غیر نانو، ۵) جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانولیپوزوم می‌باشد. پرندگان به غذا و آب دسترسی آزاد داشتند و ۲۳ ساعت نور در روز دریافت می‌کردند. دمای اولیه پرورش ۳۳ درجه سلسیوس تنظیم شد و هر هفته ۲ درجه سلسیوس کاهش یافت. آزمایش ۶ هفته به طول انجامید. سه جیره شامل شروع کننده، رشد دهنده و پایانی وجود داشت که به صورت آردی تغذیه شدند، که مبتنی بر ذرت/سویا بود که نیازهای مواد مغذی تعیین شده توسط کمپانی آویازن نژاد تجاری راس ۳۰۸ با و بدون مکمل ویتامینی حاوی اسید فولیک تهیه شد (جدول ۱).

ساختن نانولیپوزوم اسید فولیک

جهت تولید نانولیپوزوم حاوی فولاسین (فولیک اسید)، براساس روش یو و همکاران یک لیتر آب مقطر را با مقدار ۶/۴۳ گرم لیسیتین (غلظت ۱۰ میلی مولار)، ۲ میلی لیتر گلیسرول و ۸۰۰ میلی گرم فولیک اسید به ترتیب در بشر ریخته و بشر را روی هیتز با همزن مغناطیسی در دمای ۴۰-۵۰ سلسیوس به مدت یک شبانه روز قرار داده و در طول این مدت یک الی دو بار نیز سونیکشن (با دستگاه پروپ التراسونیک) شده تا این مواد مخلوط شوند و اندازه آن حدود ۲۰۰ نانومتر تا دو میکرو متر

است، ده درصد نانولیپوزوم را اسید فولیک تشکیل داده است (Yeo et al., 2018). از این روش می‌توان برای تهیه نانولیپوزوم‌هایی با طیف وسیعی از اندازه‌ها و ترکیبات استفاده کرد. وزن‌گیری و مصرف خوراک جوجه‌ها به صورت دوره‌ای در هفته‌های دو، سه و شش اندازه‌گیری شد. پرندگان سه بار در طول شبانه روز از نظر مرگ و میر بررسی شدند. از ۱۰ روزگی، تمام جوجه‌های مرده برای علائم بیماری متابولیک تغذیه‌ای کالبدگشایی شدند. کالبد شکافی توسط دامپزشک انجام شد. هیچ پروتکل خاصی برای تشخیص دقیق مرگ ناگهانی در جوجه‌های گوشتی وجود ندارد (Olkowski and Classen 1995). اگر دلایل کافی از بیماری دیگری مثل آسیب غیرعادی یا تغییر در بافت یک اندام، که معمولاً به علت بیماری یا آسیب ایجاد می‌شود، وجود نداشته باشد و پرندگان در وضعیت جسمانی خوبی باشند و سیستم گوارشی آنها هیچ مشکلی نداشته باشد، مرگ آنها به مرگ و میر ناگهانی نسبت داده شد.

جدول ۱. درصد ترکیبات جیره پایه آغازین، رشد و پایان

اجزای خوراک (درصد)	آغازین (۰-۱۰)	رشد (۱۱-۲۴)	پایانی (۲۵-۴۲)
گلوتن (ذرت)	۵/۰۰	۳/۰۰	-
ذرت	۵۰/۰۷	۵۲/۹۲	۵۶/۷۷
کنجاله سویا	۳۷/۶۷	۳۶/۸۷	۳۵/۹۱
روغن سویا	۲/۴۳	۳/۲۹	۳/۹۲
کربنات کلسیم ^۱	۱/۰۳	۰/۷۶	۰/۶۸
دی کلسیم فسفات ^۲	۱/۹۹	۱/۵۶	۱/۲۴
نمک	۰/۱۹	۰/۲۴	۰/۲۶
جوش شیرین	۰/۲۲	۰/۱۵	۰/۱۱
مکمل معدنی و ویتامینی ^{۳،۴}	۰/۵	۰/۵	۰/۵
دی ال متیونین	۰/۳۵	۰/۳۱	۰/۳۱
ال لیزین هیدرو کلراید	۰/۳۹	۰/۲۴	۰/۱۶
ترئونین	۰/۱۱	۰/۰۶	۰/۰۴
مولتی آنزیم	۰/۰۵	۰/۰۵	۰/۰۵
سالیونامیسین	-	۰/۰۵	۰/۰۵
جمع	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
مواد مغذی محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (kcal/kg)	۲۹۷۵	۳۰۵۰	۳۱۰۰
پروتئین خام (%)	۲۳	۲۱/۵	۱۹/۵
کلسیم (%)	۰/۹۵	۰/۷۵	۰/۶۵
فسفر (%)	۰/۵	۰/۴۲	۰/۳۶
ال لیزین (%)	۱/۳۲	۱/۱۸	۱/۰۸
متیونین + سیستئین (%)	۱	۰/۹۲	۰/۸۶
ترئونین (%)	۰/۸۸	۰/۷۹	۰/۷۲
چربی (%)	۴/۵۷	۵/۲	۶/۰۹
فیبر خام (%)	۳/۸۰	۳/۰۸	۳/۷۶
سدیم (%)	۰/۱۶	۰/۱۶	۰/۱۶
فولاسین	۰/۶۹	۰/۶۷	۰/۶۴

۱- کربنات کلسیم دارای ۳۷ درصد کلسیم است. ۲- دی کلسیم فسفات مورد استفاده دارای ۲۲ درصد کلسیم و ۱۸ درصد فسفر است. ۳- به ازای هر کیلوگرم جیره مکمل ویتامینه فراهم شد: ویتامین A، ۱۱۰۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین D₃، ۴۵۰۰ واحد بین‌المللی؛ ویتامین K، ۳۶ میلی‌گرم؛ ویتامین E، ۶۵ واحد بین‌المللی میلی‌گرم؛ نیامین ۴ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین ۸ میلی‌گرم؛ کولین، ۱۶۰۰ میلی‌گرم؛ B₁₂، ۰/۰۱۸ میلی‌گرم؛ اسید فولیک ۰/۲ میلی‌گرم؛ بیوتین ۰/۲۸ میلی‌گرم؛ ۴- به ازای هر کیلوگرم جیره مکمل معدنی فراهم شد: منگنز، ۱۲۰ میلی‌گرم؛ روی، ۱۱۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۲۰ میلی‌گرم؛ مس، ۶ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۳ میلی‌گرم؛ ید، ۱/۲ میلی‌گرم.

اندازه‌گیری برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی خون

در پایان دوره آزمایش، دو قطعه پرنده از هر تکرار و نزدیک به میانگین هر پن انتخاب، و از طریق ورید بال خون‌گیری انجام شد. بخشی از نمونه‌های خون در لوله‌های غیر هپارینی ریخته شد. نمونه‌ها در دمای اتاق و سپس به‌طور مورب در فلاسک یخ قرار گرفتند تا سرم جدا شود. سپس نمونه‌ها با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا سرم کاملاً جدا شود. همچنین فعالیت آنزیم‌های کبدی شامل آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و آلکالین فسفاتاز و هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4) توسط دستگاه اتوالایزر (Biolis 24) و دستگاه الایزا ریدر ارزیابی شد (Rezai et al., 2019). همچنین بخشی از نمونه‌های خون کامل جهت اندازه‌گیری هموگلوبین، استفاده شد و این نمونه‌ها با استفاده از کیت‌های تشخیص شرکت سیسمکس و دستگاه خودکار سل کانتر از کشور فرانسه اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری هموسیستئین

جهت اندازه‌گیری هموسیستئین سرم در پایان دوره (۴۲ روزگی)، دو پرنده از هر واحد آزمایشی به‌طور تصادفی و نزدیک به میانگین پن انتخاب، و خون‌گیری از طریق ورید زیر بال ۳ میلی لیتر انجام شد و بعد از جدا کردن سرم از سلول‌های خونی و نگهداری آنها تا زمان آزمایش در دمای ۸۰- سیلیسیوس با استفاده از کیت ارزیابی آنزیمی هموسیستئین (Homocysteine Enzymatic Assay kit Manual) شرکت بیوساینس و دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر خوانده شد (Baqeri et al., 2019).

آنالیز آماری

اثر مکمل نانو اسید فولیک و اسید فولیک بر غلظت هموسیستئین سرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل اجرا شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS (9.1) انجام شد (SAS Institute, 2008). مقایسه میانگین برای متغیرها از آزمون چند دامنه دانکن (1995) در سطح معنی‌داری پنج درصد انجام شد.

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + e_{ijk}$$

Y_{ijk} مقدار هر مشاهده، μ میانگین کل جامعه، A_i اثر نانو لیپوزوم اسید فولیک، B_j اثر اسید فولیک AB_{ij} اثر متقابل دو جانبه (اثر نانو لیپوزوم و اسید فولیک) و e_{ijk} مقدار خطای آزمایش می‌باشد.

یافته‌های پژوهش

عملکرد

حذف اسید فولیک از جیره در دوره‌های آغازین و پایانی و کل تاثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت، اما در دوره رشد به‌طور معنی‌داری سبب کاهش مصرف خوراک شد ($p < 0.05$). در حالی که مصرف نانو اسید فولیک در دوره‌های رشد، پایانی و کل دوره به‌طور معنی‌داری سبب کاهش مصرف خوراک در جوجه‌ها شد. نتایج این پژوهش نشان داد که میانگین وزن جوجه‌های گوشتی در تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به‌شکل نانو و تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به‌شکل غیر نانو، در مقایسه با گروه شاهد در دوره‌های رشد و پایانی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود، همچنین وزن تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به‌شکل نانولیپوزوم به نسبت خوراک دریافتی بیشتر بود. ضریب تبدیل غذایی در دوره آغازین تحت تاثیر تیمارها قرار نگرفت. در دوره آغازین، مصرف اسید فولیک در ضریب تبدیل غذایی تاثیر معنی‌داری نداشت، ولی مصرف نانو اسید فولیک سبب کاهش ضریب تبدیل غذایی شد، به‌طوری‌که در دوره‌های رشد و پایانی، نانو اسید فولیک باعث کاهش معنی‌داری در ضریب تبدیل غذایی شد ($p < 0.05$). همچنین در دوره‌های رشد و پایانی، تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به‌شکل نانو در جوجه‌های گوشتی، ضریب تبدیل غذایی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($p < 0.05$). همچنین تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به‌شکل غیرنانو در دوره رشد، ضریب تبدیل غذایی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($p < 0.05$). با این حال،

تیمار جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانو در دوره رشد و پایانی نسبت به همه ی تیمارها ضریب تبدیل غذایی را بیشتر کاهش داد (Shahraki et al., 2024).

غلظت هموسیستئین

نتایج تاثیر اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی بر غلظت هموسیستئین در جدول ۲ ارائه شده است. عامل شکل مصرفی اسید فولیک بر کاهش غلظت هموسیستئین معنی دار بود، ولی شکل مصرفی اسید فولیک نانو باعث کاهش معنی دار هموسیستئین شد. همچنین تیمار نانو اسید فولیک به مقدار ۴ میلی گرم در آب به همراه جیره شاهد به طور معنی داری غلظت هموسیستئین را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ($p < 0.05$). جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل غیر نانو غلظت هموسیستئین را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. همچنین جیره شاهد به همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی گرم در لیتر) به شکل نانو به طور معنی داری درصد غلظت هموسیستئین را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ($p < 0.05$).

جدول ۲. تاثیر شکل مصرفی اسید فولیک بر غلظت هموسیستئین

تیمار	هموسیستئین (میکرومول/لیتر)
جیره دارای اسید فولیک	۲۱/۱۶ ^a
جیره فاقد اسید فولیک	۲۳/۴۲ ^b
SEM	۰/۸۵۶
p-value	۰/۰۱۳
اسید فولیک نانو	۱۹/۸۸ ^a
اسید فولیک غیر نانو	۲۴/۷ ^b
SEM	۰/۸۵۶
p-value	۰/۰۳۲
شاهد	۲۹/۹۳ ^c
اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)	۱۸/۶۴ ^a
اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)	۲۳/۶۸ ^a
فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)	۲۱/۱۲ ^a
فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)	۲۵/۷۳ ^b
SEM	۱/۵۶
p-value	۰/۰۰۳

a, b, c: میانگین هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک نیستند دارای تفاوت معنی داری می باشند ($p < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین.

همچنین نتایج بررسی مرگ و میر (ناگهانی) ناشی از رشد سریع در جوجه های گوشتی (در جدول ۳) بدین صورت است، از کل تعداد مرگ و میر، ۱۱ قطعه جوجه (معادل ۴/۴ درصد)، مربوط به مرگ میر ناگهانی است. از این ۱۱ قطعه جوجه، ۵ قطعه (معادل ۱۰ درصد)، مربوط به تیمار شاهد و یک عدد (معادل ۲ درصد)، برای تیمار اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)، و یک قطعه جوجه (معادل ۲ درصد)، برای تیمار فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)، و دو قطعه جوجه (معادل ۴ درصد)، برای تیمار اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)، و دو قطعه جوجه (معادل ۴ درصد)، برای تیمار فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)، می باشد. داده های تجمعی مرگ و میر، از ۱۰ تا ۴۲ روزگی، به دلیل بیماری متابولیک می باشد.

جدول ۳. تاثیر شکل مصرفی اسید فولیک بر مرگ و میر (درصد)

تلفات	تیمار
۶	جیره دارای اسید فولیک
۶	جیره فاقد اسید فولیک
۰/۵۳	SEM
۰/۰۷	p-value
۴ ^a	اسید فولیک نانو
۸ ^b	اسید فولیک غیر نانو
۰/۵۳	SEM
۰/۰۰۵	p-value
۱۰ ^c	شاهد
۳ ^a	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۴ ^b	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۳ ^a	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۴ ^b	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۰/۹۳	SEM
۰/۰۰۱	p-value

a, b, c: میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک نیستند دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند ($p < 0.05$). SEM: خطای استاندارد میانگین.

نتایج تاثیر مکمل اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی بر غلظت آنزیم‌های کبدی، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آنزیم الکالین فسفاتاز (ALP) در جدول ۴ ارائه شده است. عامل شکل مصرفی اسید فولیک (اثرات اصلی و اثرات متقابل) بر کاهش غلظت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) کبدی معنی‌دار شد، ولی شکل مصرفی اسید فولیک نانو باعث کاهش معنی‌دار غلظت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) کبدی شد. همچنین تیمار نانو اسید فولیک به مقدار ۴ میلی‌گرم در آب به‌همراه جیره شاهد به‌طور معنی‌داری غلظت آنزیم‌های کبدی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی‌گرم در لیتر) به‌شکل غیر نانو غلظت آنزیم‌های کبدی را نسبت به گروه شاهد کاهش داد. همچنین جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی‌گرم در لیتر) به‌شکل نانو غلظت آنزیم‌های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) کبدی بالاترین سطح معنی‌داری را نسبت به همه تیمارها علی‌الخصوص گروه شاهد کاهش داد ($P < 0.05$). ولی هیچ کدام از تیمارهای مکمل اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی بر غلظت آنزیم الکالین فسفاتاز (ALP) تاثیر معنی‌داری نداشت، گرچه به میزان کمی سطح آنزیم الکالین فسفاتاز را افزایش داد.

نتایج تاثیر نانو اسید فولیک و اسید فولیک بر هورمون‌های تیروئیدی (تری‌یدوتیرونین T3 و تیروکسین T4) در جدول ۵ ارائه شده است. سطوح مختلف شکل مصرفی اسید فولیک بر هورمون‌های تیروئیدی افزایش داشت، ولی شکل مصرفی نانو اسید فولیک باعث افزایش هورمون‌های تیروئیدی شده است ($p < 0.05$). همچنین مصرف نانو اسید فولیک باعث افزایش معنی‌دار در هورمون‌های تیروئیدی شده است ($p < 0.05$). با این حال، میزان هورمون‌های تیروئیدی در تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی‌گرم در لیتر) به‌شکل نانو نسبت به سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش داشت ($p < 0.05$). بنابراین بالاترین میزان معنی‌داری پروتئین کل سرم، البومین و گلوبولین مربوط به تیمار جیره شاهد به‌همراه اسید فولیک در آب (۴ میلی‌گرم در لیتر) به‌شکل نانو بود ($p < 0.05$).

جدول ۴. تاثیر شکل مصرفی اسید فولیک بر پارامترهای خونی و آنزیمی سرمی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

ALP	ALT	AST	Hb	تیمار
(واحد بین المللی بر لیتر)	(واحد بین المللی بر لیتر)	(واحد بین المللی بر لیتر)	(گرم بر دسی لیتر)	
۲۸۹۳	۱۳/۶	۱۱۱/۸۱	۱۰/۷۳	جیره دارای اسید فولیک
۲۸۷۳	۱۴/۹۵	۱۱۶/۹۵۵	۱۰/۳۸	جیره فاقد اسید فولیک
۲۴۳/۲	۱/۷۴	۱/۵۲	۰/۶۸۱	SEM
۰/۰۶	۰/۰۵۶	۰/۸۹۵	۰/۳۰۸	p-value
۲۸۳۸/۵	۱۱/۸ ^a	۱۰۴/۱۹ ^a	۱۰/۹۶ ^b	اسید فولیک نانو
۲۹۲۷/۵	۱۶/۷۵ ^b	۱۲۴/۵۷ ^b	۱۰/۱۵ ^a	اسید فولیک غیر نانو
۲۴۳/۲	۱/۷۴	۱/۵۲	۰/۶۸۱	SEM
۰/۰۵۹	۰/۰۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۱۱	p-value
۲۹۸۰	۱۸/۳ ^b	۱۴۵/۸ ^c	۹/۴۴ ^a	شاهد
۲۸۷۶	۱۱ ^a	۱۰۲/۶۰ ^a	۱۱/۱۰۰ ^c	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۲۹۱۰	۱۶/۲ ^b	۱۲۱/۰۲ ^b	۱۰/۳۶ ^b	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۲۸۰۱	۱۲/۶ ^a	۱۰۵/۷۸ ^a	۱۰/۸۲۰ ^b	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۲۹۴۵	۱۷/۳ ^b	۱۲۸/۱۳ ^b	۹/۹۴ ^a	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۲۹۸/۳۲	۲/۳۵	۳/۲۳	۱/۳۲	SEM
۰/۲۱۴	۰/۰۰۱	۰/۰۲۸	۰/۰۰۵	p-value

a, b, c: میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک نیستند دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (p<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین

جدول ۵- تاثیر شکل مصرفی اسید فولیک بر سطح هورمون‌های تیروئیدی در ۴۲ روزگی (نانوگرم / میلی لیتر)

تیروکسین (T4)	تری یدوترونین (T3)	تیمار
۳/۲	۲/۷۷	جیره دارای اسید فولیک
۳/۰۷۵	۲/۶۶۵	جیره فاقد اسید فولیک
۰/۲۵۳	۰/۳۷	SEM
۰/۱۶	۰/۲۳۶	p-value
۳/۷۸۵ ^b	۳/۳۳۵ ^b	اسید فولیک نانو
۲/۴۹ ^a	۲/۱ ^a	اسید فولیک غیر نانو
۰/۲۵۳	۰/۳۷	SEM
۰/۰۲	۰/۰۱۸	p-value
۲/۳۹ ^a	۲/۰۴ ^a	شاهد
۳/۸۹ ^b	۳/۴۳ ^b	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۲/۵۱ ^a	۲/۱۱ ^a	اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۳/۶۸ ^b	۳/۲۴ ^b	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک نانو (آب)
۲/۴۷ ^a	۲/۰۹ ^a	فاقد اسید فولیک در جیره × اسید فولیک غیر نانو (آب)
۰/۶۴	۰/۴۸۱	SEM
۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	p-value

a, b, c: میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشترک نیستند دارای تفاوت معنی‌داری می‌باشند (p<0.05).

SEM: خطای استاندارد میانگین

بحث

اسید فولیک در متابولیسم اسیدهای آمینه مانند متیونین و هموسیستئین نقش دارد، و کمبود آن می‌تواند منجر به افزایش غلظت هموسیستئین شود که با مشکلات مختلفی در جوجه‌های گوشتی از جمله مرگ و میر مرتبط است (Haissaguerre *et al.*, 2002). غلظت بالای هموسیستئین در پلاسما نشانگر معقولی برای نقص در متابولیسم اسید فولیک یا کمبود اسید فولیک است (Pancharuniti *et al.*, 1994). ژانگ و همکاران در سال ۲۰۲۰ گزارش کردند که مطالعات در خصوص تاثیر اسید فولیک بر جوجه‌های گوشتی شدت گرفته و سیستم بدنی جوجه‌های گوشتی بدلیل سرعت رشد بالا، نیاز آنها به اسید فولیک بیشتر است، بنابراین باید مقدار آن در جیره به‌عنوان مکمل با توجه به تحقیقات متعدد افزایش یابد (Zhang *et al.*, 2020). فینکلستاین و همکاران در ۱۹۸۶ طی تحقیقی اعلام کردند که وقتی موش‌ها با متیونین بیش از یک‌درصد تغذیه شدند، غلظت هموسیستئین پلاسما به طور قابل توجهی افزایش یافت (Finkelstein *et al.*, 1986). در مطالعات آزمایشگاهی توسط توی و همکاران در سال ۲۰۰۶، سمیت بیش از حد متیونین در موش‌ها، رابطه بین پلاسما (اسیدهای آمینه، آنزیم‌ها و متابولیت‌های متیونین) و تغییرات سمی (سرکوب رشد، کم‌خونی همولیتیک، و هموسیدروز طحال) مورد تأیید قرار گرفت (Toue *et al.*, 2006).

نتایج این بررسی نشان داد که اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی به‌صورت مکمل در آب در سطح ۴ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری غلظت هموسیستئین را در جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد کاهش داد (جدول ۲). همچنین بوشی و همکاران گزارش کردند که هموسیستئین پلاسما در جوجه‌های گوشتی که با جیره مکمل اسید فولیک تغذیه شده بودند، ۱۷ درصد کمتر از جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره پایه بود (Boushey *et al.*, 1995)، که با نتایج این مقاله همخوانی دارد. غلظت هموسیستئین پلاسما برای مرغ‌های تخمگذار سویه W-۹۸ که بالاترین سطوح اسید فولیک را مصرف می‌کردند به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (Hebert, 2005). مکمل ویتامین سی و اسید فولیک، به‌طور جداگانه یا ترکیبی، غلظت سرمی ویتامین‌های C، E، A، اسید فولیک و ویتامین B₁₂ را افزایش داد، اما غلظت هموسیستئین را کاهش داد (Sahin, 2003). همچنین مکمل اسید فولیک در مرغ‌های تخمگذار سویه Shaver Brown، غلظت سرم فولات را افزایش و غلظت هموسیستئین را کاهش داد (Tactacan, 2010). غلظت بالای هموسیستئین پلاسما به عنوان یک عامل خطر برای بیماری قلبی و عروقی تلقی می‌شود (Brouwer, 1999). مکمل جیره جوجه‌های گوشتی با اسید فولیک نانو به طور موثرتر غلظت هموسیستئین سرم را در مقایسه با اسید فولیک معمولی کاهش داد و پتانسیل آن را در بهبود سلامت قلبی عروقی با بهینه‌سازی متابولیسم هموسیستئین نشان داد.

نتایج این بررسی نشان داد که اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی به‌صورت مکمل در آب در سطح ۴ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری غلظت هموسیستئین را در جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد کاهش داد (جدول ۲). جوجه‌های گوشتی که به دلایل نامعلومی در زمانی کوتاهی بدون هیچ علائم بیماری تلف شدند مبتلا به نارسایی قلبی و عروقی بودند (Kawada *et al.*, 1994). تحقیقات نشان می‌دهد که هموسیستئین ممکن است از طریق مکانیسم‌های مختلفی منجر به بیماری قلبی و عروقی شود، مثلاً هموسیستئین اتساع عروق وابسته به اندوتلیوم را کاهش می‌دهد، که ممکن است به دلیل کاهش اکسید نیتریک از طریق کاهش سنتز اکسید نیتریک باشد، و این باعث افزایش غلظت هموسیستئین پلاسما به دلیل کاهش اسید فولیک منجر به کاهش اسیدهای چرب ω-3 در پلاکت‌ها می‌شود و در نهایت دچار بیماری قلبی و عروقی می‌شوند (Selhub, 1999). به نظر می‌رسد هر یک یا همه اینها احتمالاً در ایجاد بیماری قلبی عروقی در انسان و جوجه‌های گوشتی نقش داشته باشند (Selhub, 1999).

مرگ و میر (سندرم مرگ ناگهانی) طی چند دهه علیرغم شناسایی آن در صنعت طیور هنوز به‌طور کامل معالجه نشده است، جوجه‌هایی که به دلیل سندرم مرگ ناگهانی می‌میرند، ناهنجاری‌های قلبی عروقی احتمالاً ناشی از فعل و انفعالات چند عاملی است که شامل عوامل ژنتیکی و محیطی به ویژه استرس است (Matte *et al.*, 1992; Milne *et al.*, 1984). بنابراین، این تنها در جوجه‌هایی مشاهده می‌شود که برای رشد سریع انتخاب شده‌اند و در معرض خطر مرگ ناشی از بیماری حاد قلبی

و عروقی هستند (Farooqi & Rahilly, 2004). بریگدن و ریدل در سال ۱۹۷۵ گزارش دادند که تلفات در جوجه‌های گوشتی نر بین ۷۰ تا ۸۰ درصد و در جوجه‌های گوشتی ماده بین ۲۰ تا ۲۵ درصد منجر به مرگ و میر می‌شود (Brig den & Riddell, 1975). به نظر می‌رسد نارسایی قلبی و عروقی یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی است (Siddiqui, 2009). افزایش غلظت هموسیستئین و بیماری‌های که متعاقب آن در جوجه‌های گوشتی ایجاد می‌شود تا حدودی ناشناخته است، اما احتمالاً با اثر بر سلول‌های عصبی اندوتلیال، منجر به آسیب اندوتلیوم و افزایش رشد عضلات صاف عروق باعث تشکیل لخته در قلب و عروق شده و از این طریق در تغییرات عملکرد اندوتلیال (سلول‌های لایه درون رگی) مرتبط می‌باشند. و از این طریق غلظت هموسیستئین پلاسما در جوجه‌های گوشتی را می‌توان با تحریک تبدیل هموسیستئین به سایر اسیدهای آمینه کاهش داد و از این جهت با کاهش تلفات و یا مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی ارتباط دارد (Samuels, 2003). تحقیقات آسیب‌شناسی نشان داد که مرگ و میر بدون علائم و نشان به احتمال زیاد، با برخی از نارسایی‌های سیستم قلبی عروقی و تحلیل رفتن عضله قلب همراه است (Matte et al., 1992; Milne et al., 1984). تغییرات در تصلب شرایین عروق کرونر باعث مرگ ماهیچه قلب می‌شود (Kawada et al., 1994). ایمادا در سال ۱۹۹۹ طی بررسی‌های آزمایشگاهی شیمی خون گزارش کرد که سطح سرم آنزیم‌هایی که به عنوان شاخصی برای تشخیص بالینی اختلال گردش خون انسان استفاده می‌شوند در ارتباط با تلفات در جوجه‌های گوشتی افزایش یافته است، بنابراین، مرگ و میر بدون علائم بیماری در جوجه‌های گوشتی به عنوان یک بیماری قلبی عروقی تلقی می‌شود (Husseiny, 1981).

همچنین مکمل اسید فولیک نانو و اسید فولیک معمولی غلظت پارامترهای خونی و آنزیمی سرم (هموگلوبین، (AST)، (ALT) و هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4)، به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند، ولی تاثیر معنی‌داری بر الکتالین فسفاتاز نداشتند. نتایج این مقاله با یافته‌های کوتلو و فوربس (۱۹۹۳)، شاهین و همکاران (۲۰۰۲) همخوانی دارد. گودا و همکاران گزارش کردند که مکمل اسید فولیک و اسید اسکوربیک به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش سطح آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، و آلانین ترانسفراز (ALT)، و افزایش هموگلوبین و هورمون‌های تیروئیدی (T3 و T4)، در خون شده است که نشان‌دهنده نقش حفاظتی آن در بهبود عملکرد کبد است (Gouda et al., 2020). که با نتایج این مقاله مطابقت دارد. مطالعه حاضر همچنین نشان داد که ناهنجاری‌های ساختاری موجود در بیماری‌های سیستم قلبی و عروقی با تلفات در جوجه‌های گوشتی مرتبط است. اسید فولیک نانو به صورت مکمل در آب در سطح ۴ میلی گرم در لیتر به طور معنی‌داری تلفات را در جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد کاهش داد (جدول ۲).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اسید فولیک نانو و اسید فولیک موثرترین ویتامینی است که برای کاهش غلظت بالای هموسیستئین و کاهش تلفات در جوجه‌های گوشتی مورد نیاز است. اسید فولیک نانو به دلیل اندازه ذرات کوچکتر و زیست‌فراهمی بالاتر، کارایی قابل توجهی نسبت به اسید فولیک معمولی و شاهد نشان داد. غلظت بالای هموسیستئین با خطر حمله قلبی، بیماری قلبی، بیماری شریانی محیطی و مرگ و میر مرتبط است. بهینه‌سازی متابولیسم هموسیستئین با مکمل اسید فولیک نانو می‌تواند خطر بیماری‌های قلبی عروقی مثل مرگ و میر را در جوجه‌های گوشتی کاهش دهد. با این حال، تحقیقات در مورد اثرات مکمل اسید فولیک نانو بر متابولیسم هموسیستئین و مرگ و میر در جوجه‌های گوشتی محدود است.

"هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Aronson, D. C., Onkenhout, W., Raben, A. M. T. J., Oudenhoven, L. F. I. J., Brommer, E. J. P., & Van Bockel, J. H., (1994). Impaired homocysteine metabolism: a risk factor in young adults with atherosclerotic arterial occlusive disease of the leg. *British Journal of Surgery*, 81(8), 1114-1118.

- Bagheri, S., H. Janmohammadi, R. Maleki, & A. Ostadrahimi., (2019). Laying hen performance, egg quality improved and yolk 5-methyltetrahydrofolate content increased by dietary supplementation of folic acid. *Animal Nutrition*, 5(2), 130-133.
- Bhalerao, S., Hegde, M., Katyare, S., & Kadam, S., (2014). Promotion of omega-3 chicken meat production: an Indian perspective. *World's Poultry Science Journal*, 70(2), 365-374.
- Blancquaert, D., Navarrete, O., Storozhenko, S., De Steur, H., Van Daele, J., Dong, W., Lei, C., Zhang, C., Stove, C., Gellynck, X. & Viaene, J., (2013). Biofortified rice to fight folate deficiency. *Handbook of Food Fortification and Health: From Concepts to Public Health Applications Volume 1*, 321-334.
- Boushey, C.J., Beresford, S.A., Omenn, G.S. & Motulsky, A.G., (1995). A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*, 274(13), 1049-1057.
- Bowes, V.A., Julian, R.J., Leeson, S. & Stirtzinger, T., (1988). Research note: effect of feed restriction on feed efficiency and incidence of sudden death syndrome in broiler chickens. *Poultry Science*, 67(7), 1102-1104.
- Brouwer, I.A., van Dusseldorp, M., Thomas, C.M., Duran, M., Hautvast, J.G., Eskes, T.K. & Steegers Theunissen, R.P., (1999). Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 69(1), 99-104.
- Brigden, J. L., & Riddell, C., (1975). A survey of mortality in four broiler flocks in western Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 16(7), 194.
- Classen, H.L., Riddell, C. & Robinson, F.E., (1991). Effects of increasing photoperiod length on performance and health of broiler chickens. *British Poultry Science*, 32(1), 21-29.
- Dibaji, S.M., Seidavi, A., Asadpour, L., & DaSilva, F.M., (2014). Effect of a synbiotic on the intestinal microflora of chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 23(1), 1-6.
- Emmert, J.L., Garrow, T.A. & Baker, D.H., (1996). Hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. *The Journal of Nutrition*, 126(8), 2050-2058.
- Farooqi, I., & O Rahilly, S., (2004). Monogenic human obesity syndromes. *Recent progress in Hormone Research*, 59, 409-424.
- Finkelstein, J.D. & Martin, J.J., (1986). Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. *Journal of Biological Chemistry*, 261(4), 1582-1587.
- Gouda, A., Amer, S. A., Gabr, S., & Tolba, S. A., (2020). Effect of dietary supplemental ascorbic acid and folic acid on the growth performance, redox status, and immune status of broiler chickens under heat stress. *Tropical Animal Health and Production*, 52, 2987-2996.
- Haïssaguerre, M., Shah, D. C., Jaïs, P., Shoda, M., Kautzner, J., Arentz, T., & Clémenty, J., (2002). Role of Purkinje conducting system in triggering of idiopathic ventricular fibrillation. *The Lancet*, 359(9307), 677-678.
- Hebert, K., J. House, & W. Guenter., (2005). Effect of dietary folic acid supplementation on egg folate content and the performance and folate status of two strains of laying hens. *Poultry Science*, 84(10), 1533-1538.
- Hogan, Albert G. and E. M. Parrot. Anemia in chicks due to vitamin deficiency. *Journal of Biological Chemistry (Proceedings)* 128:xlvi-xlvii. 19 39.
- House, J., Braun, K., Ballance, D., O'Connor, C., & Guenter, W., (2002). The enrichment of eggs with folic acid through supplementation of the laying hen diet. *Poultry Science*, 81(9), 1332-1337.
- House, J.D., O'Connor, C.P. & Guenter, W., (2003). Plasma homocysteine and glycine are sensitive indices of folate status in a rodent model of folate depletion and repletion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4461-4467.
- Husseiny, E., (1981). Effect of ambient temperature on mineral retention and balance of the broiler chicks. *Poultry Science*, 60(1), 1651.

- Hulan, H.W., Proudfoot, F.G. & Mcrae, K.B., (1980). Effect of vitamins on the incidence of mortality and acute death syndrome ("flip-over") in broiler chickens. *Poultry Science*, 59(4), 927-931.
- Imaeda, N., (1999). Characterization of serum enzyme activities and electrolyte levels in broiler chickens after death from sudden death syndrome. *Poultry Science*, 78(1), 66-69.
- Jing ,M., Munyaka, P., Tactacan, G., Rodriguez-Lecompte, J., & House, J., (2014). Performance, serum biochemical responses, and gene expression of intestinal folate transporters of young and older laying hens in response to dietary folic acid supplementation and challenge with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Poultry Science*, 93(1), 122-131 .
- Julian, R.J., (2000). Physiological, management and environmental triggers of the ascites syndrome: A review. *Avian Pathology*, 29(6), 519-527.
- Kang, S. S., (1996). Treatment of hyperhomocystinemia: physiological basis. *The Journal of Nutrition*, 126(suppl_4), 1273S-1275S.
- Kawada, M., Hirosawa, R., Yanai, T., Masegi, T. & Ueda, K., (1994). Cardiac lesions in broilers which died without clinical signs. *Avian Pathology*, 23(3), 503-511.
- Kim, Y.I., (2007). Folate and colorectal cancer: An evidence-based critical review. *Molecular Nutrition & Food Research*. 51(3), 267-292.
- Kumar, K. A., Lalitha, A., Pavithra, D., Padmavathi, I. J., Ganeshan, M., Rao, K. R., Venu, L., Balakrishna, N., Shanker, N. H., & Reddy, S. U., (2013). Maternal dietary folate and/or vitamin B12 restrictions alter body composition (adiposity) and lipid metabolism in Wistar rat offspring. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(1), 25-31 .
- Korte, M., Sgoifo, A., Ruesink, W., Kwakernaak, C., Van Voorst, S., Scheele, C. W., & Blokhuis, H. J. (1999). High carbon dioxide tension (PCO₂) and the incidence of cardiac arrhythmias in rapidly growing broiler chickens. *Veterinary Record*, 145(2), 40-43.
- Kutlu, H. R., & Forbes, J. M., (1993). Changes in growth and blood parameters in heat-stressed broiler chicks in response to dietary ascorbic acid. *Livestock Production Science*, 36(4), 335-350.
- Matte, J. J., Girard, C. L., & Brisson, G. J., (1992). The role of folic acid in the nutrition of gestating and lactating primiparous sows. *Livestock Production Science*, 32(2), 131-148.
- Milne, D., Canfield, W., Mahalko, J., & Sandstead, H., (1984). Effect of oral folic acid supplements on zinc, copper, and iron absorption and excretion. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 39(4), 535-539.
- Olkowski, A.A. & Classen, H.L., (1995). Sudden death syndrome in broiler chickens: a review. *Poultry and Avian Biology Reviews (United Kingdom)*.
- Ononiwu, J.C., Thomson, R.G., Carlson, H.C. & Julian, R.J., (1979). Pathological studies of "sudden death syndrome" in broiler chickens. *The Canadian Veterinary Journal*, 20(3), 70.
- Pancharuniti, N., Lewis, C.A., Sauberlich, H.E., Perkins, L.L., Go, R.C., Alvarez, J.O., Macaluso, M., Acton, R.T., Copeland, R.B., Cousins, A.L. & Gore, T.B., (1994). Plasma homocystine, folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(4), 940-948.
- Perna, A.F., Ingrosso, D., Lombardi, C., Acanfora, F., Satta, E., Cesare, C.M., Violetti, E., Romano, M.M. and De Santo, N.G., (2003). Possible mechanisms of homocysteine toxicity. *Kidney International*, 63, S137-S140.
- Rezaei, M., & Kazemi Fard, M., (2019). Effects of different levels of tomato powder with and without addition of enzymes on performance, blood parameters and antioxidant status of japanese quails. *Research on Animal Production*, 10(23), 11-21.
- Riddell, C., (1991). Developmental, metabolic, and miscellaneous disorders. *Diseases of Poultry*, 839-841.
- Sahin, K., M. Onderci, N. Sahin, & M. Gursu., (2003). Dietary vitamin C and folic acid supplementation ameliorates the detrimental effects of heat stress in Japanese quail. *The Journal of Nutrition*, 133(6), 1882-1886.

- Sahin, K., Sahin, N., & Yaralioglu, S., (2002). Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation, blood serum metabolites, and mineral concentrations of laying hens reared at high ambient temperature. *Biological Trace Element Research*, 85, 35-45.
- SAS Institute., (2008). *sas user,s guide statistics*. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
- Samuels, S.E., (2003). Diet, total plasma homocysteine concentrations and mortality rates in broiler chickens. *Canadian Journal of Animal Science*, 83(3), 601-604.
- Scott, T.A., (2002). Evaluation of lighting programs, diet density, and short term use of mash as compared to crumbled starter to reduce incidence of sudden death syndrome in broiler chicks to 35 d of age. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(3), 375-383.
- Selhub, J., (1999). Homocysteine metabolism. *Annual Review of Nutrition*, 19(1), 217-246.
- Shahraki, E., Kazemi fard, Rezai, M., Ansari, Z., Barani, M., (2024). Comparison of nano folic acid and folic acid on performance, carcass characteristics, blood parameters and microbial population of broiler chickens. *Research on animal production*. (Article in press, available on URL: <https://rap.sanru.ac.ir/article-1-1403-en.html>).
- Siddiqui, M.F.M.F., Patil, M.S., Khan, K.M., Khan, L.A. & Mafsu, A.M., (2009). Sudden death syndrome—an overview. *Veterinary World*, 2(11), 444-447.
- Tactacan, G., M. Jing, S. Thiessen, & J. Rodriguez-Lecompte., (2010). Characterization of folate-dependent enzymes and indices of folate status in laying hens supplemented with folic acid or 5-methyltetrahydrofolate. *Poultry Science*, 89(4), 68.
- Toue, S., Kodama, R., Amao, M., Kawamata, Y., Kimura, T. and Sakai, R., (2006). Screening of toxicity biomarkers for methionine excess in rats. *The Journal of Nutrition*, 136(6) 1716S-1721S.
- Towbin, J.A., (2001). Molecular genetic basis of sudden cardiac death *Cardiovascular Pathology* 10, 283–295.
- Volk, M., M. Herceg, B. Kralj, S. Meknic, & V. Tadic, 1974. Investigations of fetal syncope of fowl in broiler. 1. Incidence, clinical symptoms, pathomorphological finding and pathogenesis. *Vet. Arhiv*. 44:14–23.
- Xie, M., Hou, S.S., Huang, W. & Fan, H.P., (2007). Effect of excess methionine and methionine hydroxy analogue on growth performance and plasma homocysteine of growing Pekin ducks. *Poultry Science*, 86(9), 1995-1999.
- Yeo, L. K., Olusanya, T. O. B., Chaw, C. S., & Elkordy, A. A., (2018). Brief effect of a small hydrophobic drug (Cinnarizine) on the physicochemical characterisation of niosomes produced by thin-film hydration and microfluidic methods. *Pharmaceutics*, 10(4), 185. <https://www.mdpi.com/1999-4923/10/4/185>.
- Zhang, Y., Jing, W., Zhang, N., Hao, J. & Xing, J., (2020). Effect of maternal folate deficiency on growth performance, slaughter performance, and serum parameters of broiler offspring. *The Journal of Poultry Science*, 57(4), 270-276.