



"مقاله پژوهشی"

ارزیابی زیست‌فراهمی کلسیم در برخی از کربنات کلسیم‌های تجاری
رایج در تغذیه جوجه‌های گوشتیایمان چاکسری^۱، حسین جانمحمدی^۲، روح‌اله کیان‌فر^۳ و مجید علیایی^۴

۱، ۲ و ۳- دانشجوی دکتری، استاد و استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
 ۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، (نویسنده مسؤل: RKianfar@tabrizu.ac.ir)
 تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱۶
 صفحه: ۲۷ تا ۳۷

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: کلسیم موجود در جیره جوجه‌های گوشتی بر رشد، بازدهی خوراک، رشد استخوان، سلامت پا، عملکرد سیستم عصبی و ایمنی بدن موثر است. تامین کلسیم به مقدار کافی برای رسیدن به عملکرد مطلوب در جوجه‌های گوشتی امری حیاتی است. جهت تامین دقیق نیاز طیور به کلسیم می‌بایست از میزان زیست‌فراهمی کلسیم موجود در مواد خوراکی و منابع کلسیم آگاهی داشت. از این رو آزمایشی به منظور ارزیابی زیست‌فراهمی کلسیم برخی از کربنات کلسیم‌های تجاری و تاثیر آن بر عملکرد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی استخوان در جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: ابتدا چهار نمونه کربنات کلسیم تجاری که بیشترین سهم تولید در ایران را داشتند تهیه و سپس مطابق روش‌های استاندارد مقادیر کلسیم و عناصر سمی و میزان حلالیت در اسید کلریدریک ۰/۲ درصد تعیین شد. با توجه به شاخصه‌های اندازه‌گیری شده، دو کربنات کلسیم معدنی با نام‌های تجاری اطلس و البرز که حلالیت بیشتری داشتند انتخاب و میزان زیست‌فراهمی کلسیم با استفاده از ۱۸۰ قطعه جوجه نر گوشتی با روش منحنی استاندارد برآورد شد. هر یک از جیره‌های غذایی با ۶ تکرار و ۵ پرنده در هر تکرار به مدت دو هفته از ۷ تا ۲۱ روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بین کربنات‌های کلسیم مورد آزمایش بالاترین ضریب حلالیت در اسید را به ترتیب کربنات اطلس و کربنات البرز داشتند و مابقی کربنات‌ها از انحلال‌پذیری پایین‌تری برخوردار بودند ($p < 0/01$). بالاترین میزان کلسیم در کربنات اطلس (۳۷/۸٪) و کربنات البرز (۳۷/۱۳٪) بود. مابقی نمونه‌ها محتوی کلسیم کمتری داشتند. کربنات‌های اطلس و البرز کمترین مقادیر عناصر سمی را داشتند. کربنات کلسیم کلسی‌پیور به‌عنوان استاندارد استفاده شد. زیست‌فراهمی نسبی برآورد شده بر اساس وزن بدن برای کربنات اطلس، ۹۹ درصد و برای کربنات البرز، ۹۸/۶ درصد بود. زیست‌فراهمی نسبی برآورد شده بر اساس ضریب تبدیل غذایی برای کربنات اطلس، ۱۲۱/۷ درصد و کربنات البرز، ۹۲/۸ درصد بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس خاکستر استخوان درشت‌نی در کربنات اطلس، ۱۱۱/۹ درصد و کربنات البرز، ۱۰۶ درصد بود. زیست‌فراهمی نسبی برآورد شده بر اساس محتوای کلسیم استخوان درشت‌نی در کربنات اطلس، ۱۰۱/۴ درصد و برای کربنات البرز، ۸۹/۵ درصد بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس استحکام استخوان در برابر شکستگی درشت‌نی در کربنات اطلس، ۱۰۸/۹ درصد و در کربنات البرز، ۱۰۱/۴ درصد بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که در کربنات‌های کلسیم اطلس و البرز به دلیل حلالیت بیشتر و زیست‌فراهمی بالای کلسیم، قابلیت مصرف در جیره طیور به‌عنوان منبع کلسیم را دارند.

واژه‌های کلیدی: استخوان، جوجه‌گوشتی، حلالیت، زیست‌فراهمی، کربنات کلسیم

مقدمه

سلامتی و تولید با راندمان مطلوب در پرندگان، مستلزم تامین مواد مغذی از طریق جیره‌ غذایی به مقدار کافی و به شکلی قابل استفاده از نظر بیولوژیکی است. همه مواد مغذی موجود در مواد خوراکی برای پرنده قابل استفاده نیست، به همین دلیل آگاهی از مقدار مواد مغذی قابل استفاده در مواد خوراکی برای تأمین دقیق احتیاجات بسیار ضروری است (۴۶). طبق تعریف به نسبتی از یک ماده مغذی که پس از خورده شدن، جذب و در سوخت‌وساز شرکت نماید، زیست‌فراهمی می‌گویند (۳). مقادیر زیست‌فراهمی بیشتر به صورت درصد بیان می‌شود. البته مقادیر زیست‌فراهمی مواد مغذی اغلب نسبت به پاسخ به دست‌آمده با یک مرجع استاندارد بیان می‌شود. به عبارت دیگر زیست‌فراهمی ماده مغذی در یک ماده آزمایشی نسبت به زیست‌فراهمی آن در یک ماده استاندارد معمولاً بر اساس نسبت مقادیری از مواد استاندارد آزمایشی که پاسخ مشابهی را ایجاد می‌نماید محاسبه می‌شود (۳).

کلسیم موجود در جیره جوجه‌های گوشتی بر رشد، بازدهی خوراک، رشد استخوان، سلامت پا، عملکرد سیستم عصبی و ایمنی بدن موثر است. کلسیم یکی از فراوانترین عناصر در بدن غالباً اصلی‌ترین کاتیون جیره است (۱۶). در حدود ۹۹ درصد کلسیم موجود در بدن در اسکلت حیوان وجود دارد و

یک درصد باقیمانده در سوخت‌وساز سلولی، لخته‌شدن خون، فعال‌سازی آنزیم‌ها و انقباض ماهیچه‌ها نقش دارد. میزان یون کلسیم در پلاسما توسط مجموعه‌ای از مکانیسم‌های تنظیم‌کننده که شامل هورمون‌های هموستاتیک است، ثابت نگه‌داشته می‌شود (۱۶). نیاز به کلسیم در طول عمر هر پرنده تا حد زیادی تغییر می‌کند (۴۹). وزن جوجه از زمان خروج از تخم تا سه هفته‌گی حدود ۲۳ برابر می‌شود. به این منظور حیوان باید روزانه ۳۵۰ میلی‌گرم کلسیم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن خود دریافت کند. در سال‌های اخیر تامین کافی کلسیم توجه زیاد متخصصان تغذیه را به خود جلب کرده است. تامین کلسیم به مقدار کافی برای رسیدن به عملکرد مطلوب در جوجه‌های گوشتی امری حیاتی است (۴۹، ۳۷). کلسیم موجود در مواد خوراکی طبیعی با منشاء گیاهی، همراه با فیتات و اگزالات است که زیست‌فراهمی آن را کاهش می‌دهد همچنین زیست‌فراهمی کلسیم موجود در مکمل‌های کلسیمی تحت تأثیر عوامل مختلفی است، مقادیر بالای برخی از عناصر معدنی مانند منیزیم و آلومینیوم موجود در سنگ‌های آهکی زیست‌فراهمی کلسیم موجود در آنها را کاهش می‌دهد. از طرفی مازاد کلسیم در جیره می‌تواند مشکلاتی برای پرنده بوجود آورد. برای مثال کلسیم یک فاکتور منفی بر میزان فعالیت آنزیم فیتاز اندوژنوس و اگزوژنوس می‌باشد (۴۱، ۸).

فراهمی عنصر کلسیم در دی‌کلسیم فسفات ۹۹ درصد، در منابع کلسیت آهکی ۸۴ درصد و در منابع کلسیت دولومیتی ۷۵ درصد است. آنها دلیل زیست‌فراهمی بیشتر را فراهم بودن فرم کریستاله در منابع کلسیت و آزادتر بودن یون‌های کلسیم عنوان نمودند. گزارش عمده‌ای از برآورد زیست‌فراهمی منابع رایج کلسیم در کشور مشاهده نشد. لذا این آزمایش با هدف برآورد زیست‌فراهمی برخی از کربنات کلسیم‌های تجاری رایج با توجه به پاسخ‌های مختلف طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

در ابتدا چهار نوع کربنات کلسیم معدنی که در ایران بیشترین تولید و مصرف را دارند تهیه شد. سپس آنالیز عناصر و تست حلالیت برای هر چهار منبع انجام شد. برای این منظور مقدار ۱۰۰ گرم از هر نمونه جهت آزمایشات انحلال‌پذیری و ترکیبات شیمیایی برداشت و به آزمایشگاه منتقل شد. اندازه‌گیری انحلال‌پذیری بدین‌صورت بود که ۲ گرم از نمونه توسط ۲۰۰ میلی‌لیتر HCl ۰/۲ نرمال در حمام آب ۴۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حل شد و سپس با کاغذ صافی، صاف شد. پس از خشک شدن کامل وزن کنی شد و با کسر عدد به دست آمده از مقدار اولیه مقدار انحلال‌پذیری به دست آمد (۴۶). مقدار ۰/۵ گرم از هر منبع برای انجام آنالیز مواد معدنی تهیه و در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت خاکسترگیری شده و سپس با ۵ میلی‌لیتر HCl مورد هضم قرار گرفته و سپس توسط آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده و برای اندازه‌گیری نمونه‌ها توسط اسید کلریدریک هضم‌شده و با استفاده از دستگاه ICP (ساخت شرکت GBC استرالیا، مدل Integra XL) اندازه‌گیری شد. ICP دستگاهی است که به روش نشر اتمی می‌تواند عناصر را با حد تشخیص خیلی پایین اندازه‌گیری کند (۵).

دو منبع انتخاب‌شده با توجه به آزمایشات قبلی (حلالیت در اسید و مقادیر عناصر سمی) برای آزمایش برآورد زیست‌فراهمی مورد استفاده قرار گرفتند. بدین منظور برای اندازه‌گیری زیست‌فراهمی نسبی کلسیم ابتدا یک جیره پایه بدون افزودن منبع کلسیم با تأمین سایر مواد مغذی بر اساس توصیه NRC (۳۱) فرموله شد. مواد خوراکی از نظر ماده خشک (Methods 930.15; AOAC, 2016) پروتئین خام (Method 968.06; AOAC, 2016)، عصاره اتری (Method 2002.04; AOAC, 2016) و عناصر عمده نظیر کلسیم، فسفر و سدیم (Method 968.08D; AOAC, 2005) خاکستر (Method 942.05; AOAC, 2016) طبق روش‌های پیشنهاد شده توسط AOAC (۵) مورد آنالیز قرار گرفت. اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ ارائه شده است.

سطوح بالای کلسیم سبب کاهش بازده استفاده از آنزیم فیتاز، کاهش سطح عملکرد حیوان و افزایش pH دستگاه گوارش می‌شود. pH مطلوب برای فعالیت آنزیم پپسین در جوجه ۲/۸ می‌باشد و سطوح بالای کلسیم جیره سبب ایجاد pH نامناسب در پیش‌معدة و سنگدان و در نتیجه منجر به کاهش جذب اسیدهای آمینه می‌شود (۴۱). از این‌رو جهت تأمین دقیق نیاز طیور به کلسیم می‌بایست از میزان زیست‌فراهمی کلسیم موجود در مواد خوراکی و منابع کلسیم آگاهی داشت (۳۳). پاسخ حیوان به کلسیم اضافه شده از اجزای خوراکی نسبت به یک ماده مرجع که عموماً فرض می‌شود دارای زیست‌فراهمی ۱۰۰٪ است مقایسه می‌شود (۴۰). حسن‌پور باشی و همکاران (۲۲) در آزمایشی اثرات جایگزینی سنگ آهک با پسمانده کلسیم‌دار نیروگاه برق را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که میانگین وزن بدن و افزایش وزن روزانه درصد خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان درشت‌نی، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و وزن نسبی اجزای لاشه تحت‌تأثیر منبع کلسیمی جیره قرار نگرفت. کریشما (۱۵) اظهار داشت که تفاوت معنی‌داری بین جوجه‌های تغذیه شده با سنگ آهک و جوجه‌های تغذیه شده با پوسته صدف در کل دوره آزمایش از نظر میزان خاکستر استخوان درشت‌نی وجود ندارد. همچنین مک نافتون و همکاران (۲۸) با استفاده از سه منبع کلسیمی شامل سنگ آهک، پوسته صدف و صدف معدنی در جیره دوره آغازین جوجه‌های گوشتی نتیجه گرفتند که وقتی اندازه ذرات منابع یکسان باشد اختلاف معنی‌داری از لحاظ میزان رشد و درصد خاکستر درشت‌نی بین این منابع کلسیمی وجود ندارد. اما خاکستر درشت‌نی در جوجه‌های تغذیه شده با پوسته صدف به‌طور معنی‌داری بیشتر از جوجه‌های تغذیه شده با صدف معدنی بود. صحرایی و همکاران (۳۸) زیست‌فراهمی صدف معدنی شهر اردبیل را در جوجه‌های گوشتی برآورد کردند. آنها گزارش کردند که فقط حلالیت کلسیم صدف معدنی پایین‌تر از صدف دریایی بود. ابقا کلسیم و غلظت کلسیم خون در پرندگان دریافت‌کننده صدف دریایی بالاتر از صدف معدنی بود و میزان ابقا کلسیم با جایگزینی صدف معدنی کاهش یافت و بالاترین ابقا کلسیم مربوط به صدف دریایی با ۵۴/۴ درصد ابقا و کمترین ۴۷/۷ درصد مربوط به صدف معدنی بود. در آزمایش آجاکایا و همکاران (۱) منابع مختلف کلسیم از قبیل کربنات کلسیم، صدف دوکفه‌ای، سنگ آهک و پوسته حلزون در جیره جوجه‌های گوشتی بر عملکرد و خصوصیات درشت‌نی بررسی شد و نتایج نشان داد که کربنات کلسیم زیست‌فراهمی بالاتری نسبت به بقیه دارد. گیونی و نایز (۲۰) گزارش کردند که بین منابع مختلف کربنات کلسیم از قبیل صدف دریایی عمل‌آوری شده با اسید فسفریک، پوسته صدف و سنگ آهک بر عملکرد و خصوصیات استخوان درشت‌نی جوجه‌های گوشتی تفاوتی وجود ندارد. بلکه اندازه ذرات در این مورد تأثیرگذار است. بریستر و همکاران (۱۱) در گزارشی نشان دادند که زیست

جدول ۱- اجزای تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets

کربنات B		کربنات A		جیره‌های با سطوح مختلف کلسیم استاندارد		مواد خوراکی
۴۰	۴۰	۹۰	۶۰	۳۰	۱۰	
۳۴/۹۷	۳۴/۹۷	۳۴/۹۷	۳۴/۹۷	۳۴/۹۷	۳۴/۹۷	ذرت
۴۰/۰۵	۴۰/۰۵	۴۰/۰۵	۴۰/۰۵	۴۰/۰۵	۴۰/۰۵	کنجاله سویا (۴۴ درصد)
۴	۴	۴	۴	۴	۴	روغن سویا
۱۷/۲۵	۱۷/۲۵	۱۵/۹۴	۱۶/۷۲	۱۷/۵۲	۱۸	نشاسته ذرت
۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۲۷	۰/۲۷	نمک طعام
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل ویتامینی
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل موادمعدنی
۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	۰/۳۸	دی-آل متیونین
۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	آل-لیزین
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱۵	آل-ترئونین
۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	۱/۴۵	مونوسدیم فسفات
.	.	۲/۰۶	۱/۲۸	۰/۴۸	.	کلسی‌پور
.	۰/۷۵	کربنات اطلس
۰/۷۵	کربنات البرز
مواد مغذی محاسبه شده						
۳۱۶۳	۳۱۶۳	۳۱۶۳	۳۱۶۳	۳۱۶۳	۳۱۶۳	AMEn (کیلوکالری بر کیلوگرم)
۲۲	۲۲	۲۲	۲۲	۲۲	۲۲	پروتئین خام (درصد)
۰/۴۰	۰/۴۰	۰/۹۰	۰/۶۰	۰/۳۰	۰/۱۰	کلسیم (درصد)
۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	۰/۴۵	فسفر قابل دسترس (درصد)
۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	۰/۲۴	کلر (درصد)
۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	۰/۲۳	سدیم (درصد)
۱/۵۲۵	۱/۵۲۵	۱/۵۲۵	۱/۵۲۵	۱/۵۲۵	۱/۵۲۵	آرژنین (درصد)
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	لایزین (درصد)
۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	۰/۷	متیونین (درصد)
۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	۱/۰۵	متیونین + سیستین (درصد)
۱	۱	۱	۱	۱	۱	ترئونین (درصد)
۰/۳۱۷	۰/۳۱۷	۰/۳۱۷	۰/۳۱۷	۰/۳۱۷	۰/۳۱۷	تریپتوفان (درصد)

ترکیب شیمیایی پیش مخلوط ویتامین و مواد معدنی: میزان ویتامین‌های تأمین‌شده توسط مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک: ویتامین A، ۱۰۰۰۰ IU؛ D3، ۲۵۰۰ IU؛ B1، ۱۰ IU؛ B2، ۲/۲ میلی‌گرم؛ B3، ۴ میلی‌گرم؛ B6، ۲ میلی‌گرم؛ B9، ۰/۵۶ میلی‌گرم؛ B12، ۰/۱۵ میلی‌گرم؛ H2، ۰/۱۵ میکروگرم؛ کولین کلراید، ۲۰۰ میلی‌گرم. میزان مواد معدنی تأمین‌شده توسط مکمل معدنی در هر کیلوگرم خوراک: منگنز، ۸۰ میلی‌گرم؛ آهن، ۵۰ میلی‌گرم؛ روی، ۶۰ میلی‌گرم؛ مس، ۵ میلی‌گرم؛ ید، ۱ میلی‌گرم؛ سلنیوم، ۰/۱ میلی‌گرم.

/ میزان مصرف واقعی کلسیم.

جزئیات محاسبه و مقادیر مصرف واقعی و مصرف تخمین‌زده شده برای هر یک از پاسخ‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. لازم به‌ذکر است که در طول دوره آزمایش، آب و دان به‌طور آزاد در اختیار جوجه‌ها قرار داشت. در طول دوره آزمایش میزان خوراک مصرفی و وزن پرندگان به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری و ضریب تبدیل غذایی محاسبه شد. در انتهای دوره پس از خون‌گیری نمونه‌های پلاسما برداشت و مقادیر کلسیم، فسفر و آنزیم آلکالین فسفاتاز اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری کلسیم، فسفر و آنزیم آلکالین فسفاتاز، نمونه‌های پلاسما به آزمایشگاه علوم پزشکی دانشگاه تبریز انتقال داده شد و میزان کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز سرم پرندگان به‌روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه مقادیر سرمی کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز به‌روش رنگ‌سنجی با دستگاه اسپکتروفتومتر توسط کیت‌های بیوشیمیایی ساخت شرکت زیست‌شیمی اندازه‌گیری شد. اساس این روش به این صورت است که به سرم خون معرف‌های مختلفی اضافه می‌شود تا کمپلکس رنگی ایجاد شود، سپس رنگ ایجاد شده در لوله استاندارد با دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شده و با فرمول مربوطه میزان کلسیم یا فسفر سرم و از روی منحنی ترسیمی، مقادیر تعیین شد (۴). در موقع اندازه‌گیری کلسیم و فسفر، حتی میزان خیلی ناچیز مواد معدنی در داخل لوله‌ها،

سپس با استفاده از یک منبع استاندارد کربنات کلسیم با نام تجاری کلسی‌پور (mya Calcipur® 110-KP) جهت تأمین ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ درصد کلسیم توصیه NRC (۳۱) جایگزین نشاسته ذرت در جیره پایه شد. برای دو منبع کلسیم مورد آزمایش نیز جیره‌های که کلسیم آن ۴۰ درصد میزان توصیه NRC (۳۱) را تأمین می‌کرد، بالانس شد. سپس هر یک از جیره‌ها با ۶ تکرار و ۵ پرند در هر تکرار به‌مدت دو هفته از ۷ تا ۲۱ روزگی در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت. برای این منظور از ۱۸۰ قطعه جوجه نر گوشتی سویه راس ۳۰۸ با وزن یکسان استفاده شد. عملکرد و میزان ابقاء کلسیم، میزان کلسیم خون و شاخص‌های استخوانی پرنده‌ها اندازه‌گیری شد. در انتها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری معادله رگرسیون ماده استاندارد را محاسبه و با توجه به منحنی استاندارد ترسیم شده، مقادیر زیست‌فراهمی نسبی هر یک از منابع نسبت به منبع کلسیم استاندارد محاسبه شد. روش محاسبه بدین صورت بود که با توجه به معادله خط بدست‌آمده میزان مصرف تخمینی کلسیم برای منبع مورد نظر با توجه به پاسخ بدست‌آمده مانند میزان خاکستر استخوان را بدست آورده و با تقسیم آن بر میزان مصرف واقعی کلسیم میزان زیست‌فراهمی محاسبه شد. بدین ترتیب هر چقدر میزان کلسیم واقعی مصرفی به مقدار تخمینی نزدیک‌تر باشد زیست‌فراهمی بالاتر خواهد بود (۳۱). زیست‌فراهمی کلسیم = مقدار کلسیم مصرفی تخمین‌زده‌شده

ذخیره شد. همچنین اندازه‌گیری مقاومت در برابر نیروی برشی و نیروی لازم برای ایجاد شکست در استخوان درشت‌نی با استفاده از دستگاه SANTAM مدل DBBP-500 مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. میزان کلسیم و فسفر استخوان، و عناصر سنگین منابع و استخوان با دستگاه جذب اتمی (Model AA-670, Shimadzu) اندازه‌گیری شد (۲۵).

ممکن است موجب تغییر نتایج شود، لذا قبل از جهت اندازه‌گیری مقاومت در برابر نیروی برشی و نیروی لازم برای ایجاد شکست در استخوان درشت‌نی، استخوان درشت‌نی چپ پرندگان از مفصل ران و تیبیوتاروسوس جدا شد. برای تعیین میزان خاکستر، کلسیم و فسفر از بند میانی انگشت میانی پای چپ استفاده شد. بدین صورت که بند میانی از ناحیه پراکسیمال بند اول جدا شده و پس از ثبت شماره، نگهداری و

جدول ۲- عناصر و انحلال‌پذیری برخی از منابع کربنات‌های کلسیم متداول در کشور

Table 2. Mineral content and solubility of some of common calcium sources

منبع کلسیم	کلسیم (%)	فسفر (%)	منیزیم (%)	سرب ppm	کادمیوم ppm	جیوه ppm	آرسنیک ppm	فلئور ppm	حلالیت در اسید (%)
کلسی‌پیور	۴۰/۰ ^a	۰	۰/۰۱ ^c	۰/۰۵ ^d	۰/۰۵ ^d	۰/۰۵ ^d	۲/۷۵ ^c	۰/۰۵ ^c	۹۹/۰۷ ^a
اطلس	۳۷/۸۹ ^d	۰/۰۵	۰/۹۸ ^c	۴/۷۵ ^c	۱/۳۳ ^d	۰/۱۶ ^c	۵/۵۵ ^{bc}	۰/۸۳ ^b	۹۵/۳ ^a
البرز	۳۷/۱۳ ^{bc}	۰/۰۷	۱/۲۰ ^d	۸/۷۵ ^d	۵/۵ ^c	۰/۱۷ ^c	۹/۰ ^d	۱/۲۵ ^b	۸۵/۲۷ ^d
C	۳۶/۵۲ ^c	۰/۲۰	۲/۰ ^{ab}	۱۶/۵ ^a	۹/۵ ^d	۰/۲۳ ^d	۱۳/۷ ^a	۱/۴۵ ^{ab}	۶۹/۷۵ ^c
D	۳۶/۲۰ ^c	۳۶/۲۰	۲/۴۹ ^a	۱۵/۷ ^a	۱۱/۲۵ ^a	۰/۲۹ ^a	۱۴/۵ ^a	۱/۸۸ ^a	۶۰/۵۵ ^d
p-value	< ۰/۰۱	< ۰/۰۹	۰/۰۳	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱
SEM	۰/۲۹	۰/۰۸	۰/۳۸	۱/۳۲	۰/۵۴	۰/۰۲	۱/۳۴	۰/۲۰	۱/۸۵
حداکثر مجاز (۲)	-	-	۵	۱۵	۱۰	۰/۳	۱۵	-	-

1- ASTM C706, Standard Specification for Limestone for Animal Feed Use, 2013

2- Council Directive 2002/32/EC of the European parliament and of the council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed, Official Journal of the European Communities, 2013

همکاران (۳۶) رابطه‌ای بین میزان حلالیت منابع مختلف کلسیم در آب و جذب آن در انسان پیدا نکردند و بیان کردند که در شرایط کنترل شده حلالیت تاثیر کمی بر جذب دارد و میزان جذب کلسیم منابع غذایی عمدتاً تحت تاثیر سایر ترکیبات خوراک قرار دارد. یکی از دلایل متفاوت بودن حلالیت کربنات‌ها میزان متفاوت عناصر ناخواسته موجود در آنها به‌ویژه منیزیم است. وجود منیزیم در منابع کلسیمی باعث تشکیل دولومیت (CaMg(CO₃)₂) شده که از انحلال‌پذیری بسیار پایینی در اسید برخوردار است (۴۵). معمولاً روش *in vitro* حلالیت گرچه معیار سریع برای ارزیابی است ولی با روش بیولوژیکی همخوانی پایداری ندارد. مقادیر کلسیم و عناصر سنگین منابع کلسیم تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند و بالاترین میزان کلسیم (۴۰٪) مربوط به کلسی‌پیور بود که کربنات کلسیم خالص است. این ماده در صنایع غذایی کاربرد دارد و استفاده از آن در تغذیه طیور صرفه اقتصادی ندارد. در بین منابع تجاری کربنات، بالاترین میزان کلسیم مربوط به کربنات اطلس (۳۷/۸٪) و سپس کربنات البرز (۳۷/۱۳٪) بود. مابقی منابع، محتوی کلسیم کمتری داشتند. کلسی‌پیور کمترین میزان منیزیم و عناصر سنگین را داشت و در بین منابع تجاری کربنات اطلس حاوی کمترین مقادیر عناصر سنگین بود. یکی از عناصر ناخواسته در منابع کلسیمی، منیزیم می‌باشد به‌طوری که هرچه مقدار منیزیم بالاتر باشد قابلیت انحلال و جذب کلسیم کاهش می‌یابد. منیزیم با اتصال قوی‌تر آن به CaBP (پروتئین باند شونده با کلسیم) و در نتیجه جلوگیری از جذب کلسیم می‌باشد (۳۹). در منابع مواد معدنی بایستی به مقادیر عناصر سنگین توجه ویژه‌ای داشت چرا که با توجه به استانداردهای تعریف شده هر یک از این عناصر داری حداکثر مجاز هستند و منابعی که این خصوصیات را نداشته باشند مجاز به استفاده در خوراک نیستند. طبق آخرین استانداردهای تعریف شده برای سنگ آهک که مقادیر مجاز عناصر سنگین در جدول ۱ آورده شده

داده‌های جمع‌آوری شده برای منبع استاندارد و کربنات‌های اطلس و البرز ابتدا با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ و رویه UNIVARIATE از لحاظ نرمال بودن باقی‌مانده‌ها مورد آزمون قرار گرفت. سپس با استفاده از رویه GLM مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و از رویه REG جهت بدست آوردن معادله رگرسیون ماده استاندارد استفاده شد. مقایسه تفاوت میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی کرامر صورت گرفت.

نتایج و بحث

انحلال‌پذیری و محتوای مواد معدنی منابع کلسیم

نتایج میزان انحلال‌پذیری منابع کلسیم در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه آزمایشگاهی نشان داد که بین منابع کلسیم تفاوت معنی‌داری در انحلال‌پذیری وجود دارد ($p < 0.01$)، به‌صورتی که در بین منابع مورد آزمایش، کربنات کلسیم کلسی‌پیور (منبع استاندارد) بالاترین انحلال‌پذیری و در درجات بعدی کربنات اطلس و البرز قرار داشتند و مابقی کربنات‌ها از انحلال پایین‌تری برخوردار بودند. دو منبع تجاری که دارای انحلال‌پذیری بالای ۸۰ درصد بودند برای ارزیابی زیست‌فراهمی انتخاب شدند. چرا که حلالیت بالای ۸۰ درصد در اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال حاکی از قابلیت دسترسی مناسب کلسیم در طیور است (۳۸). حلالیت در اسید یک روش متداول آزمایشگاهی برای ارزیابی منابع معدنی است هرچه یک ماده در اسید بیشتر حل شود احتمال حلالیت آن نیز در بدن حیوان افزایش یافته و ازدیاد حلالیت توأم با بهبود فرایند جذب در بدن می‌باشد (۴۷). ساندربلد و همکاران (۳۹) گزارش نمودند که انحلال‌پذیری *in vitro* وابسته به منبع کلسیم و اندازه ذرات است و اثر متقابل معنی‌داری بین آن‌ها وجود دارد ولی با توجه به اندازه یکسان منابع کلسیم در این آزمایش تنها عامل تاثیرگذار در انحلال‌پذیری، منبع کلسیم بوده است. درحالی که روبرت و

غذایی جوجه‌های گوشتی با افزایش سطح کلسیم مشاهده شد. جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ای که کلسیم آن به میزان ۰/۴ درصد از کربنات‌های تجاری تامین شده بود تفاوت معنی‌داری در سرعت رشد و ضریب تبدیل غذایی با یکدیگر نداشتند. کلسیم و فسفر برای تشکیل و حفظ استخوان‌ها مهم هستند، این دو عنصر همچنین برای انجام اعمال فیزیولوژیکی مانند انقباض عضلانی، انتقال پیام‌های عصبی، فعال شدن آنزیم‌ها، واکنش‌های متابولیکی، سنتز پروتئین‌ها، نگهداری و حفظ فشار اسمزی، تعادل اسید و باز، و اجزای غشاء و دیگر فعالیت‌ها نیز حائز اهمیت زیادی می‌باشند (۳). تامین سطح صحیح از مواد معدنی پرمصرف در تعادل مناسب، برای رشد موفقیت‌آمیز جوجه‌های گوشتی بسیار مهم است. کلسیم موجود در جیره جوجه‌های گوشتی بر رشد، بازدهی خوراک، رشد استخوان، سلامت پا، عملکرد سیستم عصبی و ایمنی بدن موثر است. تامین کلسیم به مقدار کافی برای رسیدن به عملکرد مطلوب در جوجه‌های گوشتی امری حیاتی است (۳). مشابه با نتایج بدست آمده در این تحقیق، ژانگ و همکاران (۴۹) گزارش کردند که کمبودهای کلسیم و فسفر در جیره غذایی باعث کاهش سرعت رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی می‌شود. همچنین مومنه و همکاران (۳۰) گزارش کردند که جوجه‌های تغذیه شده با جیره غذایی با کلسیم کم (۰/۶ درصد) به طور معنی‌داری وزن بدن پایین‌تر و مصرف خوراک پایین‌تری داشتند.

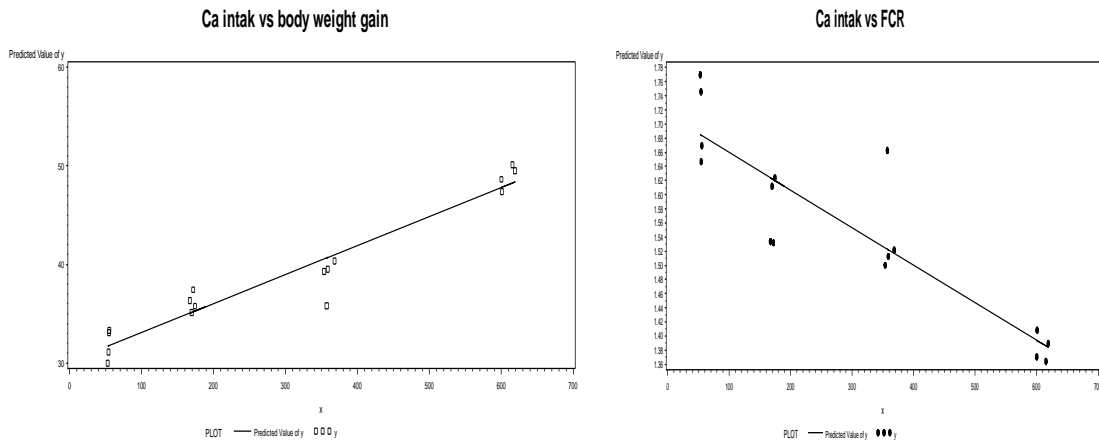
است کربنات‌های کلسیم کلسی‌پیور، اطلس و البرز همه استانداردهای لازم در این زمینه را داشتند. از این رو برای آزمایش برآورد زیست‌فراهمی کربنات‌های اطلس و البرز انتخاب شد.

مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی

اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در جدول ۳ آورده شده است. اثر سطح کلسیم بر صفات عملکردی شامل افزایش وزن، خوراک مصرفی و ضریب تبدیل غذایی در کل دوره معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). سطوح پایین کلسیم باعث کاهش رشد و افزایش ضریب تبدیل غذایی شد که نشان می‌دهد سطوح پایین کلسیم در جیره غذایی اثرات منفی بر میزان رشد جوجه‌های گوشتی داشت. قبلاً نتایج مشابهی در جوجه‌های گوشتی گزارش شده بود (۴۹، ۴۴) و پرنده‌گانی که با سطح ۰/۹ درصد کلسیم تغذیه شده بودند به طور معنی‌داری عملکرد بهتری نسبت به سطوح ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۶ درصد داشتند. با افزایش سطح کلسیم از ۰/۱ درصد به ۰/۹ درصد سرعت رشد افزایش (۱۷/۰۵ گرم در روز) و ضریب تبدیل غذایی (۰/۳۲) کاهش یافت. این نتایج از اهمیت مقادیر کافی کلسیم برای دستیابی به عملکرد رشد طبیعی و معدنی‌شدن استخوان در جوجه‌های در حال رشد را پشتیبانی می‌کنند. یک رابطه خطی مثبت بین میزان مصرفی و سرعت رشد و یک رابطه خطی منفی بین میزان کلسیم مصرفی و ضریب تبدیل مشاهده شد (شکل ۱). در مطالعه حاضر، بهبود قابل توجهی در رشد و ضریب تبدیل

جدول ۳- اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر مصرف خوراک، مصرف کلسیم، افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی جوجه‌های گوشتی
Table 3. Effects of different dietary calcium levels on feed intake, calcium intake, weight gain and feed conversion ratio of broilers

ضریب تبدیل غذایی	مصرف کلسیم (میلی گرم)	خوراک مصرفی (گرم)	افزایش وزن (گرم)	سطح کلسیم %	منبع کلسیم
۱/۷۰ ^a	۵۴/۳۷ ^e	۵۴/۳۷ ^e	۳۱/۸۷ ^d	۰/۱۰	کلسی‌پیور
۱/۵۹ ^d	۱۷۰/۹ ^d	۵۶/۹۵ ^d	۳۶/۱۷ ^c	۰/۳۰	کلسی‌پیور
۱/۵۴ ^d	۳۵۹/۶ ^d	۵۹/۹۵ ^d	۳۸/۷۵ ^d	۰/۶۰	کلسی‌پیور
۱/۳۸ ^c	۶۰۸/۹ ^a	۶۷/۶۷ ^a	۴۸/۹۳ ^a	۰/۹۰	کلسی‌پیور
۱/۵۶ ^d	۳۳۱/۳ ^c	۵۷/۸۱ ^{cd}	۳۷/۱۵ ^{bc}	۰/۴۰	کربنات اطلس
۱/۵۹ ^d	۳۳۷/۲ ^c	۵۹/۳۰ ^{bc}	۳۷/۰ ^{bc}	۰/۴۰	کربنات البرز
< ۰/۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۰۱		p-value
۰/۰۴	۵/۴۳	۱/۰۳	۱/۲۳		SEM



شکل ۱- رابطه بین میزان مصرف کلسیم با افزایش وزن و ضریب تبدیل غذایی
Figure 1. Relationship of calcium intake with growth rate and feed conversion ratio

به‌طور مشابه‌ای ژانگ و همکاران (۴۹) گزارش کردند میزان خاکستر و فسفر استخوان و مقاومت استخوان درشت‌نی و ران در مقابل شکستگی در جیره‌های با کمبود کلسیم و کاهش می‌یابد. چن و موران (۱۳) نشان دادند که کلسیم و فسفر ناکافی در جیره غذایی می‌تواند باعث شکستگی استخوان‌ها و تولید گوشت خونی در طی فرآیند کشتار شود. مومنه و همکاران (۳۰) گزارش کردند که جوجه‌های تغذیه‌شده با جیره غذایی با کلسیم کم (۰/۶ درصد) به‌طور معنی‌داری خاکستر، کلسیم و فسفر پایین‌تری در استخوان انگشت و درشت‌نی داشتند. درایور و همکاران (۱۶) نشان داد که کاهش سطح کلسیم جیره غذایی به کمتر از ۰/۶۲۵ درصد با سطح فسفر ۰/۰۴۵ درصد، اثرات منفی بر وزن بدن داشت، اما در جیره‌های با فسفر کمتر، این اثر مخرب کاهش یافت. همچنین آنوسپورگر و بیکر (۷) نشان دادند که کاهش سطح کلسیم جیره غذایی از ۱ درصد به ۰/۴۸ درصد در جیره با فسفر بالا (۰/۴۵ درصد) افزایش وزن را به‌طور قابل توجهی کاهش می‌دهد.

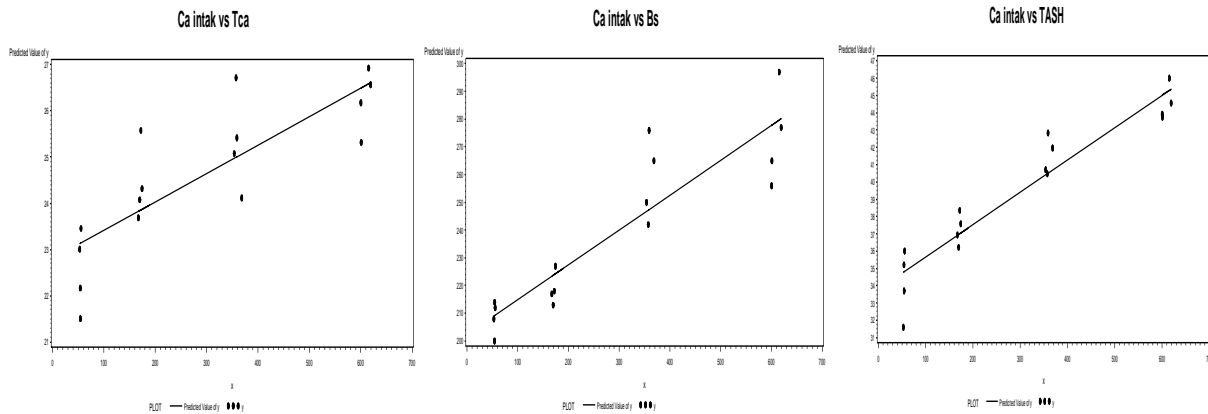
ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی استخوان

اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی استخوان درشت‌نی در جدول ۴ آورده شده است. اثر سطوح کلسیم بر میزان خاکستر، کلسیم، فسفر و مقاومت استخوان درشت‌نی در مقابل شکستگی معنی‌دار بود (p≤۰/۰۱). پرنده‌گانی که با سطح ۰/۹ درصد کلسیم تغذیه شده بودند بالاترین میزان خاکستر، کلسیم و فسفر استخوان را داشتند. همچنین استخوان این پرنده‌گان بیشترین مقاومت در مقابل شکستگی را داشت و تفاوت معنی‌داری با سطوح ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۶ مشاهده شد (p≤۰/۰۱). با افزایش سطح کلسیم از ۰/۱ درصد به ۰/۹ درصد، میزان خاکستر استخوان ۱۰/۴۶ درصد و میزان کلسیم استخوان ۳/۷۲ درصد افزایش یافت. افزایش میزان خاکستر، کلسیم و مقاومت استخوان با سطح کلسیم جیره بصورت یک رابطه خطی مثبت بین میزان کلسیم مصرفی و این صفات مشاهده شد (شکل ۲). جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ای که کلسیم آن به میزان ۰/۴ درصد از کربنات‌های تجاری تامین شده بود تفاوت معنی‌داری در میزان خاکستر، کلسیم، فسفر و مقاومت استخوان با یکدیگر نداشتند.

جدول ۴- اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی استخوان درشت‌نی

Table 4. Effects of different levels of dietary calcium on physical and chemical properties of tibia

منبع کلسیم	سطح کلسیم (%)	خاکستر (%)	کلسیم (%)	فسفر (%)	نسبت کلسیم به فسفر در استخوان	مقاومت استخوان (نیوتن)
کلسی پیور	۰/۱۰	۳۴/۱۳ ^{cd}	۲۲/۵۳ ^d	۹/۲۹ ^e	۲/۴۳ ^{cd}	۲۰۸/۵ ^c
کلسی پیور	۰/۳۰	۳۷/۲۷ ^c	۲۴/۴۱ ^{bc}	۹/۶۰ ^{de}	۲/۵۴ ^a	۲۱۸/۷ ^c
کلسی پیور	۰/۶۰	۴۱/۵۰ ^b	۲۵/۳۳ ^{ab}	۱۱/۰۷ ^d	۲/۲۹ ^{bc}	۲۵۸/۲ ^a
کلسی پیور	۰/۹۰	۴۴/۵۶ ^a	۲۶/۲۵ ^a	۱۱/۹۳ ^a	۲/۲۰ ^c	۲۷۳/۷ ^a
کربنات اطلس	۰/۴۰	۳۸/۱۶ ^c	۲۴/۲۳ ^{bc}	۱۰/۱۹ ^c	۲/۳۷ ^d	۲۴۰/۰ ^d
کربنات البرز	۰/۴۰	۳۷/۸۸ ^c	۲۴/۱۰ ^c	۱۰/۱۳ ^{cd}	۲/۳۸ ^d	۲۳۹/۰ ^d
p-value	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۱	< ۰/۰۳	< ۰/۰۱
SEM	۱/۱۳	۰/۷۳	۰/۳۷	۰/۱۰	۱۱/۰۵	۱۱/۰۵



شکل ۲- رابطه بین میزان مصرف کلسیم با محتوای خاکستر، کلسیم و مقاومت استخوان درشت‌نی
Figure 2. Relationship between calcium, ash, and calcium intake and tibia resistance

سطوح ۰/۱ و ۰/۳ درصد داشت (p≤۰/۰۵) ولی بین سطح ۰/۶ و ۰/۹ درصد تفاوتی مشاهده نشد. همچنین بین سطوح، ۰/۳ با ۰/۶ درصد و ۰/۱ با ۰/۳ درصد نیز تفاوت معنی‌داری یافت نشد. بین سطح کلسیم مصرفی و سطح کلسیم سرم گابی و همکاران (۱۸) در آزمایشی چهار نوع نمک کلسیم (لاکتات کلسیم سیترات، مالات لاکتات کلسیم، کربنات

کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز سرم

اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر میزان کلسیم، فسفر و آنزیم آلکالین فسفاتاز سرم جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ آورده شده است. اثر سطح کلسیم بر میزان کلسیم، فسفر و آنزیم آلکالین فسفاتاز معنی‌دار بود (p≤۰/۰۵). پرنده‌گانی که با سطح ۰/۹ درصد کلسیم تغذیه شده بودند بالاترین میزان کلسیم در سرم را داشتند و این سطح تفاوت معنی‌داری با

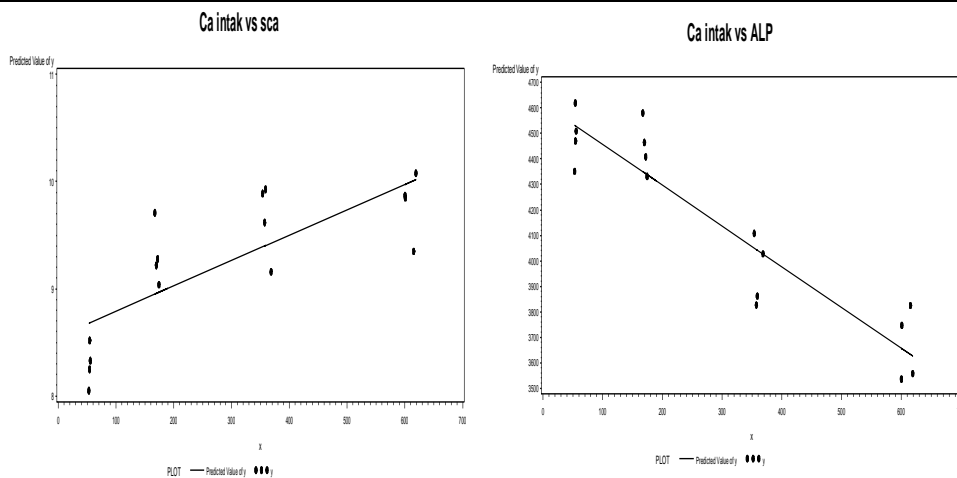
مصرفی و میزان آلکالین فسفاتاز سرم رابطه خطی منفی مشاهده شد (شکل ۴). در میان مارکرهای بازسازی استخوان، آنزیم آلکالین فسفاتاز به‌عنوان یکی از مارکرهای مفید برای نظارت بر تغییرات در تشکیل استخوان است (۴۳). کمبود کلسیم در جیره غذایی باعث افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز سرم می‌شود، که نشان می‌دهد وقتی جوجه‌های گوشتی تحت جیره غذایی کم کلسیم قرار گرفتند، استخوان‌سازی سرکوب می‌شود. اما راتو و همکاران (۳۴) مشاهده نمودند که افزایش میزان کلسیم در جیره مرغان تخم‌گذار، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. پیش از آن نیز کانر و ریچمن (۳۵) فعالیت پایین‌تر آلکالین فسفاتاز سرم مرغ‌های تخم‌گذار را در سطوح بالاتر کلسیم جیره غذایی گزارش کرده بودند. برداشت کلسیم از استخوان عمدتاً توسط فعالیت استئوکلاست‌ها یا سلول‌های بزرگ چند هسته‌ای استخوان صورت می‌گیرد. نشان داده شده است که آنزیم آلکالین فسفاتاز در استئوکلاست‌ها تولید می‌شود که نقش آن آزادسازی کلسیم از استخوان است (۱۹) همچنین پارک و همکاران (۳۲) دریافتند که بین تراکم استخوان و غلظت آلکالین فسفاتاز خون رابطه منفی وجود دارد. انگسترام و گرانستورم (۱۷) نتیجه گرفتند که تغذیه موش‌های جوان با جیره کمبود کلسیم و ویتامین D به مدت ۲ هفته منجر به ایجاد هیپوکلسیمی و افزایش فعالیت آلکالین فسفاتاز در سرم شد.

کلسیم و گلوکونات کلسیم) مختلف در انسان را بررسی کردند و دریافتند که سطح کلسیم کل سرم دو ساعت پس از مصرف لاکتات کلسیم سیترات ۷/۶ درصد، پس از مصرف مالات لاکتات کلسیم ۷/۴ درصد، بعد از مصرف کربنات کلسیم ۵/۵ درصد و بعد از گلوکونات کلسیم ۵/۸ درصد افزایش یافت. در مورد سطح فسفر سرم روند دیگری وجود داشت بطوری که تنها پرندگان تغذیه شده با کلسیم سطح ۰/۱ درصد، فسفر پایین‌تری نسبت به سایر تیمارها داشتند ($p \leq 0.05$) و بین سایر سطوح تفاوتی مشاهده نشد. مشابه با نتایج تحقیق اخیر ژانگ و همکاران (۴۹) گزارش کردند که جیره با سطوح پایین کلسیم و فسفر به‌طور قابل توجهی غلظت‌های کلسیم و فسفر سرم را کاهش داد ولی غلظت هورمون پاراتیروئید سرم (PTH) افزایش یافت.

با افزایش سطح کلسیم از ۰/۱ درصد به ۰/۹ درصد، سطح آلکالین فسفاتاز سرم ۸۲۲ واحد کاهش یافت و جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی سطح ۰/۹ درصد کلسیم به‌طور معنی‌داری آلکالین فسفاتاز پایین‌تری نسبت به بقیه سطوح داشتند ($p \leq 0.05$). کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ای که کلسیم آن به میزان ۰/۴ درصد از کربنات‌های تجاری تامین شده بود تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. میزان فسفر و آلکالین فسفاتاز پلاسمای خون جوجه‌های تغذیه شده با جیره‌ای که کلسیم آن به میزان ۰/۴ درصد از کربنات‌های تجاری تامین شده بود تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. بین سطح کلسیم

جدول ۵- اثرات سطوح مختلف کلسیم جیره بر میزان کلسیم، فسفر و آلکالین فسفاتاز پلاسمای جوجه‌های گوشتی

آلکالین فسفاتاز (U/L)	فسفر (mg/100mL)	کلسیم (mg/100mL)	سطح کلسیم (%)	منبع کلسیم
۴۴۸۸ ^a	۴/۸۵ ^d	۷/۲۸ ^c	۰/۱۰	کلسی‌پیور
۴۴۴۶ ^a	۵/۴۰ ^{ab}	۷/۱۸ ^{bc}	۰/۳۰	کلسی‌پیور
۳۹۵۶ ^b	۵/۷۳ ^a	۸/۴۰ ^{ab}	۰/۶۰	کلسی‌پیور
۳۶۶۶ ^c	۶/۰۹ ^a	۹/۲۸ ^a	۰/۹۰	کلسی‌پیور
۴۳۲۳ ^a	۵/۸۶ ^a	۸/۰۹ ^{bc}	۰/۴۰	کربنات اطلس
۴۳۴۶ ^a	۵/۷۸ ^a	۸/۳۵ ^{ab}	۰/۴۰	کربنات البرز
< ۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۱	-	p-value
۱۰۹/۶	۰/۴۶	۰/۶۱	-	SEM



شکل ۳- رابطه بین میزان مصرف کلسیم، میزان آلکالین فسفاتاز سرم
Figure 3. Relationship between calcium intake and serum calcium and alkaline phosphatase

زیست‌فراهمی کلسیم در منابع کلسیم

مقادیر زیست‌فراهمی نسبی کلسیم با معیارهای متفاوت بیولوژیکی جوجه‌های گوشتی در جدول ۶ نشان داده شده است. زیست‌فراهمی منابع انتخاب شده اطلس و البرز با کلسی‌پیور و بر اساس پاسخ‌های مختلف سنجیده شد. زیست‌فراهمی برآوردشده بر اساس وزن بدن برای کربنات اطلس، ۹۹ درصد کلسی‌پیور بود و برای کربنات البرز، ۹۸/۶ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس ضریب تبدیل غذایی برای کربنات اطلس، ۱۲۱/۷ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز، ۹۲/۸ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس خاکستر درشت‌نی برای کربنات اطلس، ۱۱۱/۹ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز، ۱۰۶/۰ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس درصد کلسیم درشت‌نی برای کربنات اطلس، ۱۰۱/۴ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز، ۸۹/۵ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس درصد کلسیم پلاسما برای کربنات اطلس، ۱۱۳/۶ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز، ۱۱۲ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس استحکام کلسیم درشت‌نی برای کربنات اطلس ۱۰۸/۹ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز ۱۰۱/۴ درصد کلسی‌پیور بود. زیست‌فراهمی برآورد شده بر اساس مقدار آلکالین فسفاتاز پلاسما برای کربنات اطلس ۷۹/۳ درصد کلسی‌پیور و برای کربنات البرز، ۷۱/۳ درصد کلسی‌پیور بود. بطور کلی بالاترین زیست‌فراهمی برآورد شده برای کربنات اطلس برای ضریب تبدیل غذایی و کمترین آن برای آلکالین فسفاتاز بدست آمد و برای کربنات البرز بالاترین زیست‌فراهمی با کلسیم سرم و کمترین آن برای آلکالین فسفاتاز بدست آمد. در همه موارد زیست‌فراهمی کربنات اطلس بالاتر از کربنات البرز بود. همچنین کلسیم موجود در مواد خوراکی طبیعی با منشا گیاهی، همراه با فیتات و اگزالات است که زیست‌فراهمی آن را کاهش می‌دهد (۲۶). افزایش وزن، نیروی لازم برای شکستن استخوان، خاکستر استخوان، خاکستر پوسته، ضخامت پوسته تولید تخم‌مرغ شاخص‌های مهمی هستند که جهت بررسی وضعیت سوخت و ساز کلسیم توسط متخصصین مختلف برای برآورد زیست‌فراهمی کلسیم مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۱). همواره این سوال مطرح است که برای بررسی میزان زیست‌فراهمی کلسیم موجود در مواد مختلف کدام یک از صفات به‌عنوان شاخص مورد استفاده قرار گیرد. یوشیدا هوشی (۴۶) با تغذیه سطوح مختلف کلسیم و فسفر به

جوجه‌های گوشتی دریافتند که میزان خاکستر انگشت پا با میزان استحکام استخوان درشت‌نی همبستگی مثبت دارد این محققین بیان کردند که میزان نیاز حیوان به کلسیم برای افزایش وزن کمتر از مقدار لازم برای تولید حداکثر خاکستر استخوان است. بنابراین خاکستر استخوان به‌عنوان معیار پاسخ در تحقیقات مربوط به زیست‌فراهمی احتیاجات تغذیه‌ای کلسیم پیشنهاد شده است. از این رو اگر میزان خاکستر استخوان در این آزمایش مدنظر قرار گیرد زیست‌فراهمی کربنات کلسیم اطلس ۱۱۱/۹ درصد و برای کربنات البرز ۱۰۶/۰ درصد می‌باشد. در آزمایشی دیگر توسط زاغری و ریاحی (۴۷)، زیست‌فراهمی کلسیم در صدف معدنی با استفاده از صفت تولید تخم‌مرغ به‌عنوان معیار برآورد، ۱۳۸ درصد برآورد شد. در این تحقیق، با استفاده از صفت ضخامت پوسته تخم‌مرغ به‌عنوان معیار برآورد، زیست‌فراهمی کلسیم موجود در صدف معدنی ۱۲۰ درصد گزارش شد. بریستر و همکاران (۱۱) در گزارشی نشان دادند که زیست‌فراهمی عنصر کلسیم در دی‌کلسیم فسفات ۹۹ درصد، در منابع کلسیت آهکی ۸۴ و در منابع کلسیت دولومیتی ۷۵ درصد است. آنها دلیل زیست‌فراهمی بیشتر را فراهم بودن فرم کریستاله در منابع کلسیت و آزادتر بودن یون‌های کلسیم عنوان نمودند. علت متفاوت بودن زیست‌فراهمی دو کربنات کلسیم در این آزمایش را می‌توان به وجود عناصر ناخواسته موجود مثل منیزیم نسبت داد که با کلسیم تشکیل دولومیت داده که از انحلال‌پذیری پایینی در اسید برخوردار است (۴۵). لسون و سامرز (۲۷) گزارش کردند یکی از دلایل اصلی زیست‌فراهمی پایین کربنات کلسیم دولومیتی به این دلیل است که این منبع حاوی دست کم ۱۰ درصد منیزیم است که می‌تواند در روده با کلسیم رقابت کرده و موجب کمبود کلسیم در پرنده شود. مقادیر بالای منیزیم در محیط روده با اتصال قوی‌تر به پروتئین باند شونده با کلسیم، از جذب کلسیم جلوگیری می‌کند (۳۹).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست‌آمده در این تحقیق مشخص شد که کربنات‌های انتخاب شده اطلس و البرز با توجه به آنالیز عناصر سنگین، حلالیت بالا در اسید و همچنین زیست‌فراهمی بالا، از کیفیت قابل قبولی در استفاده در جیره طیور برخوردارند. به نظر می‌رسد این کربنات‌های کلسیم برای صفات رشد و معدنی شدن استخوان در جوجه‌های در حال رشد، از ارزش نسبی خوبی برخوردار هستند.

جدول ۶- مقادیر زیست‌فراهمی نسبی کلسیم در کرنات‌های کلسیم نسبت به کلسی‌پیور
 Table 6. Calculation of the relative bioavailability of calcium in calcium carbonates relative to Calcipur

نمونه کرنات کلسیم البرز			نمونه کرنات کلسیم اطلس			ضریب تیین	معادلات رگرسیونی	
زیست‌فراهمی نسبی (%)	مصرف واقعی کلسیم	مصرف محاسباتی کلسیم	زیست‌فراهمی نسبی (%)	مصرف واقعی کلسیم	مصرف محاسباتی کلسیم			
۹۸/۶۴	۳۳۴/۱۱	۳۳۷/۲	۹۹/۰	۳۳۱/۳۶	۳۳۹/۰۹	۰/۹۳	$Y = 30/15 + 0/029 x$	افزایش وزن روزانه
۹۲/۸۹	۳۱۹/۶۱	۳۳۷/۲	۱۲۱/۷۰	۳۳۱/۳۶	۲۸۱/۵	۰/۷۸	$Y = 1/713 + 0/0053 x$	ضریب تبدیل غذایی
۱۰۶/۰۷	۲۵۱/۳۴	۳۳۷/۲	۱۱۱/۹۰	۳۳۱/۳۶	۲۵۹/۰	۰/۸۹	$Y = 33/77 + 0/018 x$	خاکستر استخوان
۸۹/۵۵	۲۱۳/۱۲	۳۳۷/۲	۱۰۱/۴۲	۳۳۱/۳۶	۲۳۴/۶۰	۰/۶۵	$Y = 22/79 + 0/061 x$	کلسیم استخوان
۱۱۲/۰۱	۲۶۵/۶۷	۳۳۷/۲	۱۱۳/۶۴	۳۳۱/۳۶	۲۶۲/۸۵	۰/۵۷	$Y = 7/14 + 0/035 x$	کلسیم خون
۱۰۱/۴۱	۲۴۰/۳۰	۳۳۷/۲	۱۰۸/۹۸	۳۳۱/۳۶	۲۵۲/۲۳	۰/۸۱	$Y = 202/3 + 0/125 x$	مقاومت استخوان
۷۱/۳۴	۱۶۹/۲۶	۳۳۷/۲	۷۹/۳۲	۳۳۱/۳۶	۱۸۳/۷۵	۰/۸۶	$Y = 4618 + 1/6 x$	آلکالین فسفاتاز

منابع

- Ajakaiye, A., J.O. Atteh and S. Leeson 2003. Biological availability of calcium in broiler chicks from different calcium sources found in Nigeria. *Animal Feed Science and Technology*, 104: 209-14.
- Allen, S.E. 1974. *Chemical analysis of ecological materials*. 1st ed., Blackwell, 22: 159-163, 179-184.
- Ammerman, C.B., D.H. Baker and A.J. Lewis. 1995. Bioavailability of nutrients for animal's amino acids, minerals and vitamins. Academic press, INC, 367-398.
- AOAC International. 2005. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. Assoc. Off. Anal. Chem, Maryland, USA, 771 pp.
- AOAC International. 2016. *Official Methods of Analysis (20th ed.)*, Assoc. Off. Anal. Chem, Maryland, USA, 3172 pp.
- ASTM C706. 2013. *Standard Specification for Limestone for Animal Feed Use*, ASTM International 4: 19-20.
- Augspurger, N.R. and D.H. Baker. 2004. Phytase improves dietary calcium utilization in chicks, and oyster shell, carbonate, citrate, and citrate-malate forms of calcium are equally bioavailable. *Nutrition research*, 24(4): 293-301.
- Bhandari, S.D. 1980. Effect of phytate feeding with and without protein and vitamin D deficiencies on intestinal phytase activity in rat. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 17: 309-312.
- Boiling, S.D., M.W. Douglas, R.B. Shirley, C.M. Parsons and K.W. Koelkebeck. 2000. The effects of various dietary levels of phytase and available phosphorus on performance of laying hens. *Poultry Science*, 79: 535-538.
- Boink, A.B.T.J., B.M. Buckley, T.F. Christiansen, A.K. Covington, A.H.J. Maas, O. Muller-Plathe, C. Sachs and O. Siggaard-Andersen. 1991. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Scientific Division. IFCC recommendation: Recommendation on sampling, transport and storage for the determination of concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum. *Clin. Chim. Acta*, 202: 13-2.
- Brisler, R.D., S.S. Linton and C.R. Creger. 1981. Effects of dietary calcium sources and particle size on laying hen performance. *Poultry Science*, 60: 2648-2654.
- Burnell, T.W., G.L. Cromwell and T.S. Stahly. 1990. Effects of particle size on the biological availability of calcium and phosphorus in difluorinated phosphate for chicks. *Poultry Science*, 69: 1110-1117.
- Chen, X. and E.T. Moran. 1995. The withdrawal feed of broilers: carcass responses to dietary phosphorus. *Journal of Applied Poultry Reserch*, 4: 69-82.
- Council Directive 2002/32/EC of the European parliament and of the council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed, *Official Journal of the European Communities*, 36: 10-22.
- Crenshaw, T.D., E.R. Peo, A.J. Lewis and B.D. Moser. 1981. Bone strength as a trait for assessing mineralization in swine: A critical review of techniques involved. *Journal of Animal Science*, 53: 826-835.
- Driver, J.P., G.M. Pesti, R.I. Bakalli and H.M. Edwards Jr. 2005. Calcium requirements of the modern broiler chicken as influenced by dietary protein and age. *Poultry Science*, 84: 1629-1639.
- Engström, C. and G. Granström. 1982. Alkaline phosphatases in endochondral ossification of rat's low in calcium and vitamin D deficient. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 53(3): 317-323.
- Gaby, K., M. Wolters and A. Hahn. 2010. Bioavailability and Solubility of Different Calcium-Salts as a Basis for Calcium Enrichment of Beverages. *Food and Nutrition Sciences*, 1: 53-58.
- Grizzle, J., M. Iheanacho, A. Saxton and J. Broaden. 1992. Nutritional and environmental factors involved in egg shell quality of laying hens. *British Poultry Science*, 33(4): 781-794.
- Guinotte, F. and Y. Nys. 1991. The effects of particle size and origin of calcium carbonate on performance and ossification characteristics in broiler chicks. *Poultry Science*, 70: 1908-1920.
- Han, J., E. Kim, M. Cheong, S. Chee and K. Chee. 2010. Bioavailability and Digestibility of Organic Calcium Sources by Bone Health Index. *Journal of Nutrition and Health*, 43(1): 12-25.
- Hasan Pour Bashi, S., A. Golian and A. Hasan Abadi. 2014. Effect of Mashhad power plant Ca-waste and diet phosphorus level on performance and bone strength of broiler chickens. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 6(3): 189-196 (In Persian).

23. Heaney, R.P., R.R. Recker and C.M. Weaver. 1990. Absorbability of Calcium Sources. The limited role of solubility. *Calcified Tissue International*, 46: 300-304.
24. Kaneko, J.J. and C.E. Cornelius. 1989. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 4th ed., Philadelphia, pp: 313-341, 580-590.
25. Khakpour Irani, F., H. Janmohammadi, R. Kianfar, M. Sahraei. 2019. Evaluation of chemical characteristics and effects of different manganese sources on kinetics of manganese absorption and performance of broiler chickens. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 9(3): 463-471 (In Persian).
26. Kianfar R., M. Alahyari- Shahrashb, H. Moravej and W.K. Kim. 2013. Comparative apparent metabolizable energy values of soaking, fermentation with lactobacillus and enzyme treatment of barley in cockerels and quails- *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(6): 1060-1067.
27. Leeson, S. and J.D. Summers. 2001. *Scott's Nutrition of the Chicken*. 4th Ed. University Books, Guelph, Ontario, 608 pp.
28. McNaughton, J.L., B.C. Dilworth and E.J. Day. 1974. Effect of particle size on the Utilization of calcium supplements by the chick. *Poultry Science*, 53: 1024-1029.
29. Minkin, C. 1982. Bone acid phosphatase: tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function. *Calcified tissue international*, 34: 285-290.
30. Momeneh, T., A. Karimi, G. Sadeghi, A. Vaziry and M.R. Bedford. 2018. Evaluation of dietary calcium level and source and phytase on growth performance, serum metabolites, and ileum mineral contents in broiler chicks fed adequate phosphorus diets from one to 28 days of age. *Poultry Science*, 97(4): 1283-1289.
31. NRC. 1994. *Nutrient Research Council*. 9st ed., National Academy Press. Washington DC. 173 pp.
32. Park, J.C., C.P. Kovesdy, U. Duong, E. Streja, M. Rambod, A.R. Nissenon, S.M. Sprague and K. Kalantar-Zadeh. 2010. Association of serum alkaline phosphatase and bone mineral density in maintenance hemodialysis patients. *Hemodialysis international*, 14(2): 182-192.
33. Poneross-Schneier, A.G. and J.W. Erdman. 1989. Bioavailability of calcium from sesame seeds, almond powder, whole wheat bread, spinach and non fat dry milk in rats. *Journal of Food Science*, 54: 150-153.
34. Rama Rao, S.V., M.V.L.N. Raju, M.R. Reddy and P. Pavani. 2006. Interaction between dietary calcium and non-phytate phosphorus levels on growth, bone mineralization and mineral excretion in commercial broilers. *Animal Feed Science Technology*, 131: 133-148.
35. Richman, K.C. and J.K. Conner. 1977. Influence of dietary calcium and phosphorus on metabolism and production in laying hens. *British Poultry Science*, 18: 633-640.
36. Robert, P.H., R.R. Recker and C.M. Weaver. 1990. Absorbability of calcium sources: The limited role of solubility. *Calcified tissue international*, 46: 300-30
37. Roland Sr, D.A. and H.R. Harms. 1973. Calcium metabolism in the laying hen. 5. Effect of various sources and sizes of calcium carbonate on shell quality. *Poultry Science*, 52: 369-372.
38. Sahraei, M., S. Hoseini, A. Ghanbari, A. Mostafa Tehrani and S. Rahimi. 2017. Determination of calcium bioavailability in Ardabil mineral oyster and its utilization in diet of broiler chickens. *Animal Sciences Journal*, 29(113): 51-66.
39. Sebastian, S., S.P. Touchburn, E.R. Chavez and P.C. Lague. 1996. Efficacy of supplemental microbial phytase at different dietary calcium levels on growth performance and mineral utilization of broiler chicks. *Poultry Science*, 75: 1516-1523.
40. Soares, J.H. 1987. Metabolic aspects of calcification in avians. *The Journal of Nutrition*. 117:783.
41. Sommerfeld, V., M. Schollenberger, I. Kühn and M. Rodehutschord. 2018. Interactive effects of phosphorus, calcium, and phytase supplements on products of phytate degradation in the digestive tract of broiler chickens. *Poult. Science*, 97: 1177-1188
42. Steven, L.S. and A.S. Michael. 2002. *Fundamental of Veterinary Clinical Pathology*. 1st ed., Iowa State Press, USA, pp: 369-371: 415-417.
43. Van Straalen, J.P., E. Sanders, M.F. Prummel, and G.T. Sanders. 1991. Bone-alkaline phosphatase as indicator of bone formation. *Clinica Chimica Acta*, 201: 27-33.
44. Watson, B.C., J.O. Matthews, L.L. Southern and J.L. Shelton. 2006. The effects of phytase on growth performance and intestinal transit time of broilers fed nutritionally adequate diets and diets deficient in calcium and phosphorus. *Poultry Science*, 85: 493-497.
45. Wonyen, D.G., V. Kromah, B. Gibson, S. Nah and S.C. Chelgani. 2018. A Review of Flotation Separation of Mg Carbonates (Dolomite and Magnesite). *Minerals*, 8: 354.
46. Yoshida, M. and H. Hoshii. 1982. Relationship between ash content of the toe and hardness of the tibia bone of meat type chick. *Japanese Poultry Science*. 19: 126-128.
47. Zaghari, M. and M. Riahi. 2006. Determination of calcium bioavailability in mineral oysters (Lumachel). *Iranian Journal of Agriculture Science*, 37(4): 255-262 (In Persian).
48. Zhang, B. and C.N. Coon. 1997. The Relationship of Calcium Intake, Source, Size, Solubility in vitro and in Vivo, and Gizzard Limestone Retention in Laying Hens. *Poultry Science*, 76: 1702-1706.
49. Zhang, L.H., T.F. He, J.X. Hu, M. Li and X.S. Piao. 2020. Effects of normal and low calcium and phosphorus levels and 25-hydroxycholecalciferol supplementation on performance, serum antioxidant status, meat quality, and bone properties of broilers. *Poultry Science*, 99: 5663-5672.

Evaluation of Calcium Bioavailability of Some Common Commercial Calcium Carbonates and its Effect on Bone Function and Physical and Chemical Properties in Broilers

Iman Chaksari¹, Hossein Janmohammadi², Ruhollah Kianfar³ and Majid Olyaei⁴

1, 2 and 4- Ph.D. Student, Professor and Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

2- Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran,
(Corresponding author: Rkianfar@tabrizu.ac.ir)

Received: 30 Jun, 2021 Accepted: 7 December, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Calcium in the diet of broiler chickens is effective on growth, feed efficiency, bone growth, leg health, nervous system function and body immunity. It is essential to provide calcium in sufficient amount to achieve optimal performance in broiler chickens. In order to accurately meet the calcium needs of poultry, one should be aware of the amount of bioavailable calcium in food and calcium sources. Therefore, an experiment was conducted to evaluate the calcium bioavailability of some commercial calcium carbonates and its effect on the function and physical and chemical characteristics of bone in broiler chickens.

Material and Methods: Four samples of commercial calcium carbonate, which have the highest production in Iran, were prepared. Then, according to standard methods, the amounts of heavy elements and their solubility in acid were determined. According to the measured characteristics, two carbonates which had better quality were selected and the bioavailability of calcium was determined using 180 male chickens by the standard curve method. Each diet was provided to chickens with 6 replications and 5 birds in each replication for two weeks from 7 to 21 days.

Results: The results of the present study showed that among the carbonates tested, the highest solubility was carbonate Atlas, then carbonate Alborz, and the rest of the carbonates had lower solubility ($p < 0.01$). The highest amount of calcium was related to carbonate Atlas (37.8) and then carbonate B (37.13). The other calcium sources had less calcium levels. Carbonate Atlas and Alborz had less poisonous elements. Calcipiure was applied as standard calcium source. The estimated bioavailability based on body weight was 99% for carbonate Atlas and 98.6% in carbonate Alborz. The estimated bioavailability based on the FCR for carbonate A was 121.7% and carbonate B was 92.8%. Estimated bioavailability based on tibial ash was 111.9% for carbonate Atlas and 106% in carbonate Alborz. The estimated bioavailability based on the percentage of tibia calcium was 101.4% for carbonate A and 89.5% in carbonate Alborz. The estimated bioavailability based on tibia calcium strength was 108% for carbonate Atlas and 101% in carbonate Alborz.

Conclusions: In general, the results of the present study showed that the selected carbonates have an acceptable quality as a source of calcium in poultry diets.

Keywords: Bioavailability, Bone, Calcium carbonate, Chicken, Solubility