Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Evaluation of the effect of feeding zinc nanoparticles on consumption of dry matter, milk compounds, and blood parameters of Holstein dairy cows

Abed zarqami[1], Abolfazl Zali[2*], Mehdi Ganjkhanlou[3], Mostafa Sadeghi[4], Ronak Rafipour[5]

1 PhD. student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
2 Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: a.zali@ut.ac.ir
3 Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
4 Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
5 Assistant Professor, Department of Chemistry, Nano Drug Delivery Research Center, Kermanshah Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 11/06/2023
Revised: 07/05/2024
Accepted: 07/07/2024

Keywords:
Blood parameters
Performance of dairy cows
Zinc oxide
ZnO-NPs particles

ABSTRACT

Background and Objectives: The development of nanotechnology has led to the production of zinc nanoparticles, which possess unique characteristics such as a wider contact surface, higher surface activity, higher catalytic efficiency and stronger absorption ability. This combination has the potential to improve the growth of rumen bacteria and enhance energy consumption. Therefore, the aim of this research is to investigate the effect of zinc nanoparticle supplementation on dry matter intake, milk composition and blood parameters in Holstein dairy cows.

Materials and Methods: A total of 24 Holstein dairy cows with an average weight of 650±20 kg, parity number of 2nd and more, and lactation days of 70±4 days were used during a 35-day trial period with four experimental diets. The treatments included: 1) basal diet containing 30 mg/KgDM zinc oxide, 2) basal diet + containing 30 mg/KgDM ZnO-NPs, 3) basal diet + containing 60 mg/KgDM ZnO-NPs, and 4) basal diet + containing 90 mg/KgDM ZnO-NPs. The study followed completely randomized design. Zinc nanoparticles were produced in the laboratory using the by co-precipitation method. The cows were milked and fed three times a day. Feed samples and residues were collected twice a week. Milk samples were collected weekly for three consecutive days. To measure, Milk composition, Blood samples were taken weekly two hours after the morning meal using a vacuum syringe from the tail vein to measure serum parameters.

Results: The results showed that the dry matter intake and the amount of milk production were not affected by the experimental diets (P>0.05). The number of somatic cells significantly decreased under the influence of ZnO-NPs nanoparticle consumption (P<0.05). They were not affected by the consumption of ZnO-NPs particles (P>0.05). Cows in the ZnO-NPs nanoparticle group showed higher

concentration of superoxide dismutase (SOD) enzyme than the control group (P<0.05). Other compounds measured from the serum of cows were not significantly different among the experimental groups (P>0.05).

Conclusion: Overall, feeding zinc nanoparticles to dairy cows can be suggested as a solution to enhance the dairy herd management. The results showed that nano zinc sources in the diet of dairy cows were more suitable as a supplement compared to the mineral form of zinc.

Cite this article: Zarqami, A., Zali, A., Ganjkhanlou, M., Sadeghi, M., Rafipour, R. (2024). Evaluation of the effect of feeding zinc nanoparticles on consumption of dry matter, milk compounds and blood parameters of Holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 12(3), 21-38.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2024.21893.1924
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۴۲۶۱-۲۳۴۵
شاپا الکترونیکی: ۴۲۵۳-۲۳۴۵

تاثیر تغذیه ذرات نانو اکسید روی بر مصرف مادهٔ خشک، ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری هلشتاین

عابد ضرغامی[۱]، ابوالفضل زالی[۲*]، مهدی گنج‌خانلو[۳]، مصطفی صادقی[۴]، روناک رفیع‌پور[۵]

[۱] دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.
[۲] استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: a.zali@ut.ac.ir
[۳] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.
[۴] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران.
[۵] استادیار گروه شیمی، مرکز تحقیقات دارو رسانی نانو، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۱۵
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۴/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۱۷

واژه‌های کلیدی:
اکسید روی
ذرات نانو اکسید روی
عملکرد گاو شیری
فراسنجه‌های خونی

چکیده

سابقه و هدف: توسعه فناوری نانو سبب تولید ذرات نانو روی گردیده است که ویژگی‌های منحصربه‌فردی نظیر سطح تماس گسترده‌تر، فعالیت سطحی بالاتر، بازده کنش‌یار بیشتر و توانایی جذب قوی‌تری دارند. تغذیهٔ ذرات نانو روی نسبت به سایر منابع، بازده بالاتری داشته و مسمومیت با آن احتمال کمتری دارد. از طرفی این ترکیب می‌تواند سبب بهبود رشد باکتری‌های شکمبه و بازده مصرف انرژی شود. از همین رو هدف تحقیق حاضر، بررسی تأثیر تغذیه ذرات نانو روی بر مصرف ماده خشک، ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ رأس گاو شیری هلشتاین با میانگین وزنی (۲۰±۶۵۰ کیلوگرم) و تعداد شکم زایش (۲ و بیشتر) و روزهای شیردهی (۴±۷۰ روز) طی یک دوره آزمایشی ۳۵ روزه ۴ جیره آزمایشی شامل: ۱) جیره حاوی ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک اکسید روی؛ ۲) جیره پایه به‌علاوه ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ذرات نانو اکسید روی (ZnO-NPs)؛ ۳) جیره پایه به‌علاوه ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs؛ (خلوص ۹۹ درصد) و ۴) جیره پایه به‌علاوه ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs در قالب طرح کاملاً تصادفی تغذیه و مورد مطالعه قرار گرفتند. تولید آزمایشگاهی ذره نانو روی به روش هم‌رسوبی انجام شد. شیردوشی و خوراک‌دهی گاوها سه مرتبه در روز انجام شد. همچنین نمونه خوراک و باقی‌مانده خوراک ۲ بار در هفته جمع‌آوری گردید. جهت اندازه‌گیری ترکیبات شیر به صورت هفتگی ۳ روز متوالی نمونه‌های شیر جمع‌آوری شد. همچنین برای اندازه‌گیری فراسنجه‌های سرم نیز نمونه‌های خون به صورت هفتگی دو ساعت پس از خوراک-دهی وعده صبح با استفاده از سرنگ خلأ از سیاهرگ دُمی گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که مادهٔ خشک مصرفی و مقدار تولید شیر تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفتند ($P>0/05$). تعداد سلول‌های بدنی تحت تأثیر مصرف ZnO-NPs به‌طور

معنی‌دار روند کاهشی داشت (P<۰/۰۵) سایر ترکیبات شیر، مانند پروتئین، چربی، لاکتوز، نیتروژن اوره‌ای شیر، اسیدهای چرب آزاد غیر استریفیه، بتا هیدروکسی بوتیرات تحت تأثیر مصرف ذرات نانو روی قرار نگرفتند (P>۰/۰۵). گاوهای گروه ZnO-NPs نسبت به گروه پایه غلظت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بیشتری نشان دادند (P<۰/۰۵). دیگر ترکیبات اندازه‌گیری شده از سرم گاوها در بین گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری نداشتند (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، تغذیه عنصر روی در گاوهای شیری از منابع آلی می‌تواند به عنوان راهکاری مناسب جهت مدیریت تولیدات نهایی گله‌های شیری مطرح گردد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نانو روی در جیره‌های غذایی نسبت به فرم معدنی آن منجر به افزایش بهره‌وری تولیدات و عملکرد گاوهای شیری شد.

استناد: ضرغامی، عابد؛ زالی، ابوالفضل؛ گنج‌خانلو، مهدی؛ صادقی، مصطفی؛ رفیع‌پور، روناک. (۱۴۰۳). تأثیر تغذیه ذرات نانو اکسید روی بر مصرف مادهٔ خشک، ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیری هلشتاین. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۲(۳)، ۳۸-۲۱.

DOI: 10.22069/ejrr.2024.21893.1924

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

صنعت نانو در سال‌های اخیر سبب ایجاد انقلابی در صنایعی نظیر پزشکی، مهندسی، رنگ‌سازی، صنایع غذایی، صنایع الکترونیک، داروسازی و حتی کشاورزی شده است. یکی از مهم‌ترین تأثیرات این صنعت را می‌توان در بخش تغذیه مواد معدنی هم در انسان و هم در دام مشاهده کرد. به‌طوری‌که امروزه به صورت گسترده از نانو ذرات مواد معدنی به خصوص مواد معدنی کم مصرف در تغذیه دام و طیور استفاده می‌شود (El-Sayed و Kamel، ۲۰۲۰). مزیت استفاده از ذرات نانو اکسید روی (ZnO-NPs) نسبت به اشکال معدنی آن، به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر (۱ تا ۱۰۰ نانومتر) در ترکیبات نانو، جذب در دستگاه گوارش بهتر صورت گرفته بنابراین این ترکیبات نسبت به شکل اکسید روی (ZnO)، حتی در میزان مصرف پایین‌تر نیز، کارایی بالاتری دارد (Youssef و همکاران، ۲۰۱۹). به عبارتی استفاده از منابع ذرات نانو روی سبب افزایش زیست فراهمی عنصر روی برای دام شده و درعین‌حال، میزان روی مورد نیاز جهت استفاده در خوراک را کاهش می‌دهد (Rahman و همکاران، ۲۰۲۲). در گاوهای شیری مبتلا به ورم پستان تحت بالینی، جیره غذایی مکمل شده با ذرات نانو اکسید روی باعث کاهش تعداد سلول‌های بدنی (SCC[1])، بهبود وضعیت و افزایش تولید شیر شد (Hozyen و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین فعالیت ضد باکتریایی ذرات نانو اکسید روی را در برابر عفونت استافیلوکوکوس اورئوس[2] و اشریشیا کلی[3] جداشده از پستان گاو بیمار مشاهده کردند. غلظت ۴۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، رشد باکتری‌ها، کپک‌ها و مخمرهای جداشده از عفونت‌های سطحی یا عمیق مانند سواب بینی/ یا حلقی گاومیش‌های مبتلا به بیماری تنفسی، سواب مدفوع گاومیش‌های دارای بیماری اسهال و نمونه‌های شیر گاومیش‌های دارای ورم پستان را مهار کردند، نشان می‌دهد که ذرات نانو به‌عنوان یک ترکیب باکتری‌کش و قارچ‌کش می‌تواند عمل کند (Hassan و همکاران، ۲۰۱۴). در گزارشی عنوان‌شده است که ذرات نانو اکسید روی در غلظت‌های ۱/۰ و ۲/۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از تکثیر باکتری‌های عامل ورم پستان مانند *استرپتوکوک اپیدرمیس*[4]، *استرپتوکوک آگالاکتیه*[5]، *کلبسیلا پنومونیه*[6] و *اشریشیا کلی* جلوگیری کرد (Chen و همکاران، ۲۰۱۱). از این رو، پیشنهاد گردید که فعالیت‌های باکتری‌کشی ذرات نانو اکسید روی مربوط به اندازه کوچک نانو ذره می‌باشد که می‌تواند ۲۵۰ برابر کوچک‌تر از اندازه یک باکتری باشد؛ بنابراین، ذرات نانو می‌توانند به راحتی به سطح باکتری بچسبند، آن را از بین ببرند و منجر به مرگ باکتری شوند. علاوه بر این، مشخص شد که اندازه کوچک ذرات نانو سطح بالایی از واکنش‌پذیری را فراهم می‌کند و می‌تواند به سادگی توسط سلول‌ها مورداستفاده قرار گیرد و روی را تخلیه کند که می‌تواند برای مولکول‌های زیستی باکتری کشنده باشد (Rahman و همکاران، ۲۰۲۲). علاوه بر مطالب عنوان‌شده عنصر روی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و نانو ذره آن می‌تواند نقش مهمی را در از بین بردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایفا کند (Belewu و همکاران، ۲۰۲۱). نتایج مثبتی از مکمل‌سازی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ذرات نانو اکسید روی در جیره‌های آزمایشی برای بهبود تخمیرات شکمبه‌ای، میزان آزادسازی متان، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC)[7] و تولید توده میکروبی در شرایط آزمایشگاهی گزارش‌شده است (Chen و همکاران،

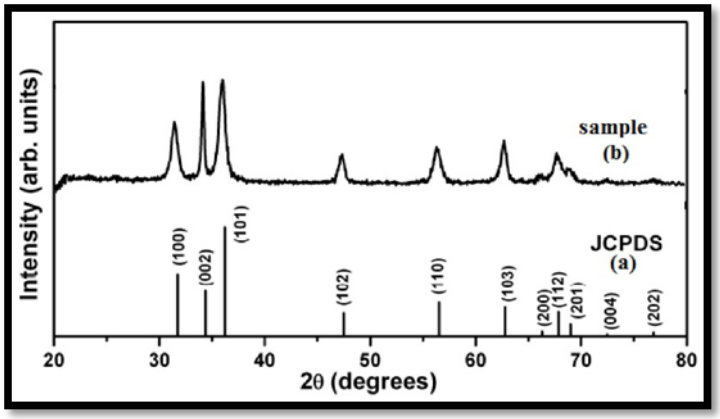
[1] Somatic Cell Count (SCC)
[2] *Staphylococcus aureus*
[3] *Escherichia coli*
[4] *Staphylococcus epidermidis*
[5] *Streptococcus agalactiae*
[6] *Klebsiella pneumoniae*
[7] Total Antioxidant Capacity (TAC)

۲۰۱۱)؛ به‌طوری‌که مصرف مکمل ذرات ZnO-NPs باعث بهبود جمعیت میکروارگانیسم‌های شکمبه در شرایط آزمایشگاهی، افزایش تولید پروتئین میکروبی شکمبه و ظرفیت مصرف انرژی در مرحله اولیه شد. علاوه بر این، اسیدهای چرب فرار (VFA) با غلظت پروتئین میکروبی و تخمیر مواد آلی افزایش یافت. در همان زمان، نیتروژن آمونیاک و نسبت استات به پروپیونات با مکمل ذرات نانو اکسید روی کاهش یافت (Chen و همکاران، ۲۰۱۱ و Adegbeye و همکاران، ۲۰۱۹). انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۲۰۰۱) مقدار ۶۳ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک را به عنوان نیاز غذایی عنصر Zn برای گاوهای شیری بالغ (BW = ۶۴۰ Kg) توصیه کرده است (NRC، ۲۰۲۱). کمبود روی در گاو منجر به رشد نامناسب، کاهش مصرف خوراک، کاهش تولید شیر و کاهش نرخ و چرخه آبستنی می‌شود (Kujur و همکاران، ۲۰۱۶). علاوه بر مطالعه تأثیرات مثبت ذرات نانو اکسید روی در خوراک، بررسی‌های تکمیلی و مهمی روی اثرات منفی این ماده نیز انجام شدند (Rahman و همکاران، ۲۰۲۲). آزمایشات سنجش سموم خوراک تولیدشده با ذرات نانو اکسید روی بر بدن بره‌ها نشان دادند که نانو اکسید روی با غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش سطح سرم ALP و افزایش سطح سرم کراتینین در بدن بره می‌شود. همچنین نکروز کبدی و تورم سلولی در بدن بره مشاهده گردید؛ بنابراین مشخص گردید که از ذرات نانو اکسید روی در گوسفندانی که دارای کمبود روی می‌باشند، نباید استفاده شود (Rahman و همکاران، ۲۰۲۲ و Kujur و همکاران، ۲۰۱۶). برخی از محققان اثرات مثبت نانو اکسید روی (El-Sabry و همکاران، ۲۰۱۸، Swain و همکاران، ۲۰۱۸ و Abdollahi و همکاران، ۲۰۲۰) و منابع آلی روی (Cope و همکاران، ۲۰۰۹ و Alimohamady و همکاران، ۲۰۱۹) را پیشنهاد کرده‌اند. در مورد عملکرد و سلامت دام پیشنهادشده است که استفاده از منابع روی آلی، به جای نمک‌های معدنی، به دلیل زیست‌فراهمی بیشتر و اثر متقابل کمتر با سایر مواد معدنی، اثرات مواد معدنی را بهبود می‌بخشد (Alimohamady و همکاران، ۲۰۱۹ و Goff، ۲۰۱۸). بااین‌حال، اثرات تغذیه‌ای منابع معدنی و آلی بر عملکرد دام با نتایجی که هیچ تأثیری نشان نمی‌دهند (Mandal و همکاران، ۲۰۰۷) یا اثر بهبودی (Alimohamady و همکاران، ۲۰۱۹ و Goff، ۲۰۱۸)، به دلیل عواملی در تضاد بود؛ مانند نوع حیوان، مرحله فیزیولوژیکی، سطح روی در جیره‌های پایه، خلوص مکمل، وجود یا عدم وجود عوامل استرس‌زا، ذخایر بدن، محیط و فصل (Alimohamady و همکاران، ۲۰۱۹ و Nayeri و همکاران، ۲۰۱۴). طبق دانش ما، اطلاعات کمی در مورد اثر نانو اکسید روی، در مقایسه با منابع آلی و معدنی روی، بر عملکرد، وضعیت مواد معدنی و ایمنی نشخوارکنندگان وجود دارد. با توجه به‌اندازه کوچک‌تر و نسبت سطح به حجم بالاتر (Swain و همکاران، ۲۰۱۸)، این فرضیه وجود داشت که ذرات نانو اکسید روی می‌تواند در مقایسه با منابع رایج روی، برای میکروارگانیسم‌های شکمبه و دستگاه گوارش قابل دسترس‌تر باشد. بر این اساس، ممکن است فعالیت آنزیمی میکروبی، تخمیرات شکمبه، تعادل مواد مغذی، مصرف ماده خشک و تولید و ترکیبات شیر و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گاو را تغییر دهد؛ بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی تأثیر تغذیه ذرات نانو روی بر مصرف ماده خشک، برخی ترکیبات شیر و فراسنجه‌های خونی گاوهای شیرده هلشتاین پس از زایش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در محل مزرعه گاو شیری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در

محمد شهر کرج در زمستان ۱۴۰۰ انجام گردید. طرح آزمایشی در نظر گرفته‌شده از نوع کاملاً تصادفی بود که در آن ۲۴ رأس گاو هلشتاین شیرده با میانگین وزنی (۲۰±۶۵۰ کیلوگرم) و تعداد شکم زایش (۲ و بیشتر) و تعداد روزهای شیردهی (۴±۷۰ روز) طی یک دوره آزمایشی ۳۵ روزه ۴ جیره آزمایشی را دریافت کرده و در جایگاه‌های انفرادی شامل آخور و آبشخور جداگانه نگهداری شدند. طول دوره عادت-دهی ۱۴ روز بود. جیره پایه بر اساس نیازهای بیان‌شده در NRC نسخه (۲۰۰۱) تنظیم شد (NRC، ۲۰۰۱). جیره‌های آزمایشی شامل ۱) جیره پایه حاوی ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO؛ ۲) جیره پایه به‌علاوه ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs؛ ۳) جیرهٔ پایه به‌علاوه ۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs؛ و ۴) جیره پایه به‌علاوه ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs بود. تولید آزمایشگاهی ZnO-NPs مطابق با روش پیشنهادشده Beek و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد (Beek و همکاران، ۲۰۰۵). اندازه ذرات و پایداری این نانو ذرات با استفاده از دستگاه زتا سایزر (Zetasizer nano ZS, Malvern Instruments Ltd., U.K) موردبررسی قرار گرفت (Beek و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج اندازه‌گیری ZnO-NPs توسط XRD و SEM نشان می‌دهد که اندازه متوسط ZnO-NPs حدود ۳۰ نانومتر بوده است (شکل ۱). مجدداً ۶۰ روز بعد از تولید، سایز این نانو ذره مورد بررسی قرار گرفت که نتایج این بررسی نشان‌دهندهٔ عدم تغییر محسوس در اندازه این ذرات و پایداری ذرات تولیدشده بود.



شکل ۱- الگوهای XRD ذرات نانو اکسید روی (ZnO-NPs): (الف) الگوی XRD استاندارد و (ب) الگوی XRD نمونه ZnO

خوراک‌دهی به صورت دو بار در روز در ساعت-های ۹ صبح و ۵ بعدازظهر در اختیار دام‌ها قرار گرفت. نمونه خوراک و باقی‌مانده خوراک ۲ بار در هفته جمع‌آوری‌شده و پس از توزین، هر ۴ هفته یک‌بار جهت تجزیه به آزمایشگاه ارسال شد. تجزیه شیمیایی نمونه‌های خوراک بر اساس روش‌های انجمن رسمی شیمیدانان کشاورزی[1] (۲۰۰۵) انجام گرفت (AOAC، ۲۰۰۵). برای اندازه‌گیری ماده خشک از آون با دمای ۱۰۰-۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ ساعت (کد aoac: ۹۳۰/۱۵)، خاکستر از کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲

[1] Association of Official Analytical Chemists (AOAC)

ساعت (کد AOAC: ۹۴۲/۰۵)، پروتئین خام با دستگاه کجلدال (Foss Electric, Copenhagen, Denmark) (روش: ۹۷۶/۰۵)، چربی خام با دستگاه سوکسله (مدل ۱۰۴۳ و Soxtec) (کد AOAC: ۹۲۰/۳۹) تعیین شد (AOAC، ۲۰۰۵). مقادیر عنصر روی در نمونه‌ها نیز با استفاده از دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی (مدل ۵۱۰۰، HGA-۶۰۰ ساخت کشور آمریکا) اندازه‌گیری شد. برای این منظور حدود ۰/۵ گرم از ماده خوراکی توزین و در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت به خاکستر خشک تبدیل شدند. سپس نمونه خاکستر خشک در ۰/۶ مول بر لیتر هیدروکلرید اسید محلول و در بطری‌های حجمی با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Seifdavati و همکاران، ۲۰۱۸). همچنین اندازه‌گیری الیاف نامحلول در شوینده خنثی با استفاده از دستگاه (Fibertic system, Tecator, 1010, Denmark) طبق روش Van Soest و همکاران (۱۹۹۱) انجام گرفت و کربوهیدرات غیر فیبری نیز توسط مدل پیشنهادی انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۲۰۰۱) محاسبه گردید (NRC، ۲۰۰۱). شیردوشی سه بار در روز در ساعت‌های ۸/۳۰ صبح، ۲/۳۰ بعداز ظهر و ۱۰/۰۰ شب انجام شد و نمونه شیر به‌صورت روزانه جمع‌آوری شد. جهت اندازه‌گیری نیتروژن اوره‌ای شیر[1] (MUN)، چربی، پروتئین، لاکتوز، شمار سلول‌های بدنی شیر (SCC) و بتاهیدروکسی بوتیرات[2] (BHBA) و اسیدهای چرب غیر استریفیه[3] (NEFA) با استفاده از دستگاه آنالیز شیر (Delta Instrument, Combiscope, 600HP) در آزمایشگاه شیر البرز شرکت ایده‌سازان روژان الوند انجام گرفت.

جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های خونی، نمونه‌های خون به‌صورت هفتگی دو ساعت پس از خوراک‌دهی وعده صبح با استفاده از سرنگ خلأ از سیاهرگ دُمی گرفته شد. نمونه‌های گرفته‌شده در داخل لوله‌های آزمایش حاوی هپارین یا اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک اسید[4] (EDTA) به آزمایشگاه منتقل‌شده و پس از سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، جهت اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسیرید، پروتئین تام، آلبومین، نیتروژن اوره‌ای خون (BUN)، غلظت عنصر روی مورداستفاده قرار گرفتند (Cortinhas و همکاران، ۲۰۱۰). فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز (کیت‌های شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) با دستگاه اسپکتروفتومتر (اتوآنالایزر، BT 3500، اسپانیا) اندازه‌گیری شد. تعیین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (کیت رندوکس‌رنسود، شرکت رندوکس، انگلستان) در گلبول‌های قرمز و بر اساس روش سان و همکاران (۱۹۸۸) انجام شد (Sun و همکاران، ۱۹۹۱). بدین‌منظور ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه خون کامل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوز شد و پس از برداشت پلاسما، گلبول‌های قرمز ۴ بار با ۳ میلی‌لیتر محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد شستشو و سانتریفیوژ شدند. همولیزات گلبول قرمز پس از مخلوط‌شدن با آب مقطر سرد و بافر فسفات رقیق، آماده سنجش دستگاهی (دستگاه اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۰۵ نانومتر) شدند. اصول این روش بر اساس جلوگیری از کاهش ۲-(۴- یدوفنیل) ۵- فنیل تترازولیوم کلراید توسط سیستم زانتین-زانتین اکسیداز (به‌عنوان تولیدکننده رادیکال سوپراکسید) بود. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌صورت واحد در گرم هموگلوبین گزارش شد (Sun و همکاران، ۱۹۹۱).

[1]-Milk Urea Nitrogen (MUN)
[2]-Beta-Hydroxy-Butyric Acid (BHBA)
[3] Non-Esterified Fatty Acids (NEFA)
[4] Ethylene-Di-Amine Tetra-Acetic Acid (EDTA)

جدول ۱- اقلام خوراکی و ترکیبات شیمیایی (درصدی از مادهٔ خشک) جیره‌های آزمایشی

Table 1- Food items and chemical compounds (percentage of dry matter) of the experimental diets

اقلام خوراکی (Feed ingredients)	نانو اکسید روی ZnO-NPs (mg/KgDM)			
	شاهدControl	30	60	90
سیلوی ذرت (Corn silage)	25.43	25.43	25.43	25.43
یونجه خشک خرد شده (Alfalfa hay, chopped)	15.87	15.87	15.87	15.87
دانه ذرت آسیاب شده (Corn grain, ground)	16.68	16.98	17.28	17.16
دانه جو آسیاب شده (Barley grain, ground)	7.93	7.93	7.93	7.93
سبوس گندم (wheat bran)	6.95	6.95	6.95	6.95
کنجاله سویا (Soybean meal)	13.47	13.47	13.47	13.47
کنجاله کلزا (canola meal)	10.36	10.36	10.36	10.36
پودر چربی (Fat powder)	1.16	1.16	1.16	1.16
دی کلسیم فسفات (Dicalcium phosphate)	0.12	0.12	0.12	0.12
بی‌کربنات سدیم (Sodium bicarbonate)	0.58	0.58	0.58	0.58
مکمل معدنی و ویتامینه حاوی ۳۰ ppm ZnO (خلوص ۹۸ ٪) (Vit & min mix)	0.42	-	-	-
مکمل معدنی و ویتامینه حاوی ۳۰ ppm ZnO-NPs (خلوص ۹۹/۱ ٪) (Vit & min mix)	-	0.30	-	-
مکمل معدنی و ویتامینه حاوی ۶۰ ppm ZnO-NPs (خلوص ۹۹/۱ ٪) (Vit & min mix)	-	-	0.60	-
مکمل معدنی و ویتامینه به حاوی۹۰ ppm ZnO-NPs (خلوص ۹۹/۱ ٪) (Vit & min mix)	-	-	-	0.90
اکسید منیزیم (Magnesium oxide)	0.12	0.12	0.12	0.12
بنتونیت (Bentonite)	0.19	0.19	0.19	0.19
نمک (Salt)	0.24	0.24	0.24	0.24
ترکیب شیمیایی (Chemical composition)				
مادهٔ خشک (٪) (Dry matter, %)	52.24	52.24	52.24	52.24
انرژی خالص شیردهی (مگاکالری بر کیلوگرم) (Net Energy of lactation, Mcal/Kg)	1.71	1.71	1.71	1.71
پروتئین خام (٪ ماده خشک) (Crude protein, %DM)	17.85	17.84	17.82	17.80
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (٪ ماده خشک) (Neutral detergent fiber, %DM)	32.10	32.10	32.10	32.10
کربوهیدرات غیر فیبری (٪ ماده خشک) (Non fiber carbohydrate, % DM)	36.34	36.34	36.34	36.34
نشاسته (٪ ماده خشک) (Starch, %DM)	26.72	26.72	26.72	26.72
خاکستر (٪ ماده خشک) (Ash, %DM)	7.13	7.13	7.13	7.13

مکمل معدنی و ویتامینی [براساس کیلوگرم در روز مادهٔ خشک]: کلسیم: ۱۷۰ گرم، فسفر ۶۰ گرم، منیزیم: ۱۰۰ گرم، منگنز: ۱۳۰۰۰ میلی‌گرم، مس: ۵۰۰۰ میلی‌گرم، آهن: ۴۰۰۰ میلی‌گرم، کبالت: ۸۰ میلی‌گرم، سلنیوم: ۱۱۰ میلی‌گرم، ید: ۲۰۰ میلی‌گرم، ویتامین A: ۱.۲۵۰.۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین D_3: ۳۰۰.۰۰۰ واحد بین‌المللی، ویتامین E: ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی. ZnO-NPs (نانو اکسید روی دارای خلوص بیش از ۹۹ درصد، حاوی ۷۹ درصد روی)

Mineral and Vitamin Supplement [based on kg per day of dry matter]: calcium: 170 grams, phosphorus 60 grams, magnesium: 100 grams, manganese: 13000 mg, copper: 5000 mg, iron: 4000 mg Cobalt: 80 mg, Selenium: 110 mg, Iodine: 200 mg, Vitamin A: 1,250,000 IU, Vitamin D3: 300,000 IU, Vitamin E: 6000 IU. ZnO-NPs (zinc oxide nanoparticles with a purity of more than 99%, containing 79% zinc)

داده‌های مصرف خوراک، تولید و ترکیبات شیر و فراسنجه‌های سرم خون با استفاده از رویه MIXED تکرار شده در زمان و توسط نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ به کمک مدل آماری زیر تجزیه‌وتحلیل گردید (SAS، ۲۰۰۳):

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + A(T_i)_k + TP_{ij} + b(DIM) + e_{ijk}$$

که در مدل مذکور، Y_{ijk} متغیر وابسته؛ μ: میانگین کل؛ T_i: اثر iاُمین تیمار؛ $A(T_i)_k$: اثر تصادفی حیوان kاُم در تیمار iام؛ TP_{ij}: اثر متقابل زمان نمونه‌برداری و منبع روی؛ b(DIM): عامل کوواریت (روزهای شیردهی، شکم زایش و وزن حیوان) و e_{ijk}: اثر اشتباه آزمایشی می‌باشد.

نتایج و بحث

ماده خشک مصرفی تحت تأثیر مصرف ذرات نانو اکسید روی قرار نگرفت (P>۰/۰۵) (جدول ۲). نتایج مطالعه حاضر با گزارش‌های سایر محققان در یک راستا بود (Cortinhas و همکاران، ۲۰۱۰؛ Bakhshizadeh و همکاران، ۲۰۱۹ و Nandanwar و همکاران، ۲۰۲۲)؛ اما با نتایج Miller و همکاران، (۱۹۸۹) در تضاد بود. در مطالعه‌ی دیگر Nandanwar و همکاران، (۲۰۲۲) گزارش دادند با مصرف ۴۰ ppm ذرات نانو اکسید روی مصرف ماده خشک در دوره پیک تولید، حدوداً ۱/۵ تا ۲/۵ کیلوگرم نسبت به جیره پایه افزایش‌یافته است. دلایل متنوع بودن نتایج می‌تواند مربوط به فصل، محیط، جیره غذایی، اشکال عناصر و دام مورد آزمایش باشد (Nandanwar و همکاران، ۲۰۲۲). Kasiani و همکاران، (۲۰۲۱) گزارش دادند افزایش غلظت عنصر روی باعث کاهش مصرف ماده خشک گاوهای شیرده می‌شود. در مطالعه‌ی دیگر Alijani و همکاران، (۲۰۲۰) علت کاهش مصرف ماده خشک توسط بره‌ها را این‌گونه عنوان کردند که مصرف سطوح بالای مواد معدنی کمیاب حتی به فرم کیلاته (روی_متیونین)، منجر به سمیت در بدن خواهد شد و حتی روند تخمیرات شکمبه را تغییر می‌دهد (Alijani و همکاران، ۲۰۲۰). در حالی‌که آزمایش**0020e4`1+2**حاضر نشان داد مصرف ۹۰ ppm هیچ تأثیر منفی بر ماده خشک گاوهای شیری ندارد. به نظر می‌رسد سطح بالای مواد معدنی بر ویژگی تخمیر و گوارش‌پذیری شکمبه‌ای مواد مغذی تأثیر مستقیم دارد.

مقدار تولید شیر گاوهای شیری تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). گزارش‌های قبلی در خصوص اثرات انواع مکمل‌های معدنی کمیاب بر مقدار تولید شیر متغیر است. Kinal و همکاران، (۲۰۰۵) و Cope و همکاران، (۲۰۰۹) افزایش تولید شیر گاوهای شیری با تغذیه جیره‌های حاوی مواد معدنی کیلاته آلی گزارش کردند و دلیل آن را تأثیر روی_متیونین/ یا لایزین بر تولید توده میکروبی و افزایش ماده خشک مصرفی عنوان نمودند. مشخص‌شده است عنصر روی در ساختار طیف وسیعی از آنزیم‌ها و پروتئین‌های مهم بدن شرکت نموده و می‌تواند موجب بهبود بازده مصرف دیگر مواد مغذی خوراک شود، بنابراین تأمین میزان کافی مکمل روی بر تولید شیر گاوهای پرتولید اثر مثبت دارد (Cortinhas و همکاران، ۲۰۱۰). Rajendran و همکاران، (۲۰۱۳) عنوان کردند ذرات نانو اکسید روی بر مولکول‌های زیستی میکروارگانیسم‌های شکمبه گاوهای شیری تأثیر بسزایی داشته که بازده مصرف خوراک و مقدار تولید شیر را نسبت به جیره بدون مکمل نانو اکسید روی افزایش داد. بااین‌حال، برخی از مطالعات Chandra و همکاران، (۱۹۹۱)؛ Uchida و همکاران، (۲۰۰۱) گزارش کردند که شکل مکمل روی هیچ تأثیری بر مقدار تولید شیر ندارد، عدم پاسخ مثبت به تولید شیر هنگام تغذیه گاوهای شیری با فرم آلی عنصر روی ممکن است تا حدی نشان‌دهندهٔ محتوای بالای مواد معدنی جیره پایه و کمپلکس‌های آلی مواد معدنی طبیعی موجود در پروتئین سویا باشد. مطابق با نتایج جدول (۲)، در مطالعه حاضر، ترکیبات شیر تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵)، نتایج ما، همسو با گزارش‌های Cope و همکاران، (۲۰۰۹) و Hosseini-Vardanjani و

همکاران، (۲۰۲۰) بود. مقدار شیر تولیدی تصحیح‌شده بر اساس ۳/۵ ٪ چربی شیر (FCM)، مقدار شیر تولیدی تصحیح‌شده بر اساس انرژی (ECM) در دام-های مورد آزمایش تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). عدم تأثیرگذاری فرم آلی Zn بر تولید و برخی ترکیبات شیر، احتمالاً به دلیل تأمین مقدار کافی Zn برای گاوهای شیری تغذیه‌شده با ZnO یا ZnO-NPs باشد، به این خاطر که در نتیجهٔ استفاده از مقادیر مختلف Zn در جیره، قابلیت زیست دسترسی مکمل Zn نسبت به محدودیت سطوح جیره‌ای Zn ممکن است از اهمیت کمتری برخوردار باشد (Zaboli و Elyasi، ۲۰۲۱).

در مطالعه حاضر، شمار سلول‌های بدنی برای گاوهایی که منبع اکسید روی دریافت کرده بودند نسبت به فرم نانو اکسید روی به‌طور معنی‌دار بیشتر بود (P<۰/۰۵). در مقایسه با گروه شاهد، کاهش SCC شیر در گاوهای شیری دریافت‌کننده مکمل‌های روی، به‌ویژه ذرات نانو اکسید روی، به دلیل بهبود لکوسیت‌های کل و TAC حیوانات تغذیه‌شده با اکسید روی و ذرات نانو اکسید روی بود که باعث کاهش حساسیت پستان به عفونت‌های باکتریایی می-شود (Cope و همکاران، ۲۰۰۹؛ Song و همکاران، ۲۰۱۰). اثر بخشی برتر ذرات نانو اکسید روی در کاهش SCC شیر گاوهای شیری احتمالاً به کاهش اثر آن بر میکروب‌های بیماری‌زا مربوط می‌شود (Hosseini-Vardanjani و همکاران، ۲۰۲۰). در تحقیقی دیگر، Rajendran و همکاران، (۲۰۱۳) اظهار کردند که ذرات نانو اکسید روی باعث کاهش SCC شیر در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و افزایش تولید شیر در مقایسه با حیوانات تغذیه‌شده با مکمل اکسید روی می‌گردد. گزارش‌شده است که خواص ضد میکروبی ذرات نانو روی با سطح، نسبت مساحت به حجم، شکل و اندازه ذرات مناسب مرتبط است (Auffan و همکاران، ۲۰۰۹ و Arabi و همکاران، ۲۰۱۲). Tong و همکاران، (۲۰۱۳) پیشنهاد کردند که اندازه ذرات نانو روی بین ۱ الی ۳۵ نانومتری می‌تواند فعالیت ضد میکروبی ذرات را به دلیل قرار گرفتن سطح قطبی اکسید روی با غشای سلولی باکتری به‌صورت بار منفی افزایش دهد. با توجه به‌اندازه ذرات نانو روی که در مطالعه حاضر استفاده شد (۲۰ الی ۳۰ نانومتر)، SCC پایین برای گاوهایی که تیمار نانو اکسید روی را دریافت کردند، انتظار می‌رفت. گزارش‌شده است که افزودن ذرات نانو روی باعث تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود که باعث استرس اکسیداتیو به سلول‌های باکتریایی می‌شود (Kumar و همکاران، ۲۰۱۱ و Zaboli و Elyasi، ۲۰۲۱). علاوه بر این، ذرات نانو روی ممکن است باعث اختلال الکترواستاتیکی غشای بیرونی و وقفه در عملکرد طبیعی غشای سلولی شود که در نتیجه نشت مواد داخل سلولی ایجاد می‌شود (Liu و همکاران، ۲۰۰۹). حلالیت روی همچنین ممکن است بر فعالیت متابولیک تأثیر بگذارد و رشد سلول‌های باکتریایی را مهار کند (Song و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های Rajendran و همکاران، (۲۰۰۹) مطابقت دارد. Kinal و همکاران، (۲۰۰۵) دریافتند که وقتی گاوها به ترتیب با نانو و روی کیلات شده تغذیه شدند، کاهش SCC را ثبت کردند.Cope و همکاران، (۲۰۰۹) با وجود اینکه مقدار کمتری از SCC (میانگین ≈ ۱۳۰۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر) را در مقایسه با مطالعه حاضر (میانگین = ۱۴۱۰۰۰ سلول در میلی‌لیتر) گزارش کردند، امّا هیچ تأثیر معنی‌داری از فرم‌های مختلف روی بر SCC مشاهده نکردند؛ بنابراین، می‌توان استنباط کرد که سطح پایین SCCیکی از اثرات مفید تغذیه مکمل روی به فرم آلی است (Cope و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به ادامه نتایج جدول (۲)، بتاهیدروکسی بوتیرات، اسیدهای چرب آزاد غیر استریفیه و نیز نیتروژن اوره‌ای شیر تحت تأثیر فرم اکسید و نانو ذره روی قرار نگرفت (P>۰/۰۵). طبق بررسی‌های قبلی، مستندات علمی معتبر در ارتباط با مکمل Zn و شاخص‌های اندازه‌گیری شده شیر ارائه نشده است. غلظت NEFA و BHBA شیر پس از زایش مرتبط با مادهٔ خشک مصرفی بعد از زایش است (Arabi و همکاران، ۲۰۱۲). گزارش‌شده است که NEFA و BHBA شیر ابزار مفیدی برای تشخیص مادهٔ خشک مصرفی گاوها (تازه‌زا و انتظار زایمان) و فرمولاسیون جیره برای این گروه است (Hosseini-Vardanjani و همکاران، ۲۰۲۰). در این آزمایش عدم تأثیر معنی‌دار جیره‌های آزمایشی بر مادهٔ خشک مصرفی، احتمالاً دلیلی بر این مطلب باشد.

جدول ۲- تأثیر اکسید روی و نانو اکسید روی بر مصرف روزانهٔ مادهٔ خشک، عملکرد تولید و برخی ترکیبات شیر گاوهای شیری هلشتاین

Table 2- The effect of zinc oxide and nano zinc oxide on dry matter intake, production performance and milk composition of Holstein dairy cows

سطح احتمال معنی‌داری (*P*-Value)	خطای استاندارد میانگین (SEM)	نانو اکسید روی ZnO-NPs (mg/KgDM)				
		90	60	30	شاهد Control	
0.365	1.130	22.50	23.02	23.12	22.09	مادهٔ خشک مصرفی (کیلوگرم در روز) Dry matter intake (Kg/d)
0.151	2.937	35.55	37.26	36.96	36.42	شیر تولیدی (کیلوگرم در روز) Milk yield (kg/d)
0.648	1.477	30.87	32.12	31.44	31.31	مقدار شیر تصحیح‌شده بر اساس چربی (کیلوگرم در روز) Fat corrected milk (Kg/d)
0.597	1.611	31.91	33.75	32.62	32.08	مقدار شیر تصحیح‌شده بر اساس انرژی (کیلوگرم در روز) Energy corrected milk (Kg/d)
0.302	0.247	3.12	3.16	3.13	3.10	درصد چربی شیر Milk fat (%)
0.533	0.042	3.00	3.06	2.98	2.97	درصد پروتئین شیر Milk protein (%)
0.112	0.061	4.57	4.56	4.61	4.58	درصد لاکتوز شیر Milk lactose (%)
0.264	0.071	1.03	1.03	1.04	1.05	نسبت چربی به پروتئین شیر Milk fat/protein ratio
0.003	1.854	141.15^{b}	135.02^{b}	150.28^{b}	175.50^{a}	شمار سلول‌های بدنی (۱۰^{۳}/ میلی‌لیتر) SCC (10^3/ml)
0.915	0.887	11.25	10.89	11.65	11.88	نیتروژن اوره‌ای شیر (میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم شیر) MUN (mg/100g)
0.094	0.039	0.165	0.168	0.170	0.169	بتاهیدروکسی بوتیرات (میلی‌مول در لیتر) BHBA (mmol/l)
0.810	53.16	709.18	695.28	725.17	737.99	اسیدهای چرب آزاد غیر استریفیه (میکرواکی‌والان در لیتر) NEFA(µEq/l)

SCC: شمار سلول‌های بدنی؛ MUN: نیتروژن اوره‌ای شیر؛ BHBA: بتاهیدروکسی بوتیرات؛ NEFA: اسیدهای چرب غیر استریفیه؛ SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ ^{a,b}حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P\leq 0.05$).

SCC: Somatic Cell Count; MUN: Milk Urea Nitrogen; BHBA: Beta-Hydroxybutyrate; NEFA: Non-Esterified Fatty Acids; SEM: Standard Error of the Mean; ^{a,b} Means within a row for each effect with different superscripts are different ($P\leq 0.05$).

غلظت اغلب ترکیبات سرم تحت تأثیر جیره‌های آزمایشی نبود (P>۰/۰۵)؛ اما میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گروه شاهد و سایر تیمارها به ترتیب ۲۱۲۴، ۲۱۳۵، ۲۱۸۳ و ۲۱۵۷ واحد در هر گرم هموگلوبین (خطای استاندارد ۵۵/۸۳ واحد) بود که حکایت از بهبود فعالیت این آنزیم در گاوهای

تغذیه‌شده با مکمل‌های روی بود. با وجود این، به لحاظ آماری، تنها تفاوت فعالیت آنزیمی خون گاوهای گروه دارای ۶۰ و ۹۰ گرم در کیلوگرم ماده خشک ZnO-NPs در مقایسه با جیره پایه معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). همسو با نتایج این مطالعه، گزارش کردند زمانی که خوک‌ها با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسید روی جیره غذایی تغذیه شدند فعالیت آنزیم SOD در مقایسه با جیره پایه افزایش یافت. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که به عناصر مس، منگنز و روی وابسته است، از طریق خنثی‌سازی رادیکال‌های سوپراکسید نقش مهمی در حفاظت سلول در برابر تخریب توسط عوامل اکسیدانت بازی می‌کند، بنابراین کمبود این عناصر سبب کاهش فعالیت آن می‌شود (NRC، ۲۰۰۱). در رابطه با تأثیر مکمل‌های Zn بر فعالیت آنزیم SOD، مطابق با نتایج این آزمایش، تغذیه مکمل‌های معدنی و ذرات نانو روی سبب افزایش فعالیت این آنزیم در خون گاوهای شیری هلشتاین شد (Sobhanirad و Naserian، ۲۰۱۲) درحالی‌که در گوساله‌ها (Mandal و همکاران، ۲۰۰۷) تفاوتی بین گروه‌های دریافت‌کننده روی با شاهد مشاهده نشده است. مقادیر گلوکز سرم گاوهای شیری در مطالعه حاضر بین جیره‌های آزمایشی معنی-دار نشد (P>۰/۰۵). همسو با نتایج ما، Bakhshizadeh و همکاران (۲۰۱۹) نیز در مطالعه خود گاوهایی که با منابع آلی روی تغذیه‌شده بودند تفاوتی بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نکردند. بر خلاف مشاهدات انجام‌شده در این مطالعه، Mohamed و همکاران، (۲۰۱۷) نشان داد که گلوکز سرم میش‌ها و بره‌های تغذیه‌شده با نانو روی_متیونین به‌طور قابل‌توجهی در مقایسه با گروه شاهد افزایش‌یافته است. بررسی حاضر نشان داد که جیره حاوی ZnO-NPs با میزان بالا از نظر آماری سطح زیر منحنی گلوکز کمتری نسبت به گروه کنترل دارد. غلظت گلوکز بالاتر در گروه‌های شاهد، نسبت به گاوهای گروه ZnO-NPs نشان‌دهندهٔ عدم کارایی انسولین برای پاک کردن میزان مشابه گلوکز در این گروه‌ها بوده، لذا ممکن است نشان‌دهنده درجه‌ای از مقاومت به انسولین باشد؛ بنابراین، به‌نظر می‌رسد که افزایش غلظت روی سرم خون با افزایش ترشح انسولین از پانکراس و یا با افزایش حساسیت بافتی به انسولین در بهبود وضعیت سطح انرژی گاوهای شیرده مؤثر بوده باشد. لذا می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مصرف گلوکز خون توسط بافت‌های محیطی در گاوهای شیری دریافت‌کننده Zn بیشتر از گروه کنترل تحت تأثیر واقع‌شده است. مطالعه حاضر نشان داد که میانگین مقادیر پروتئین کل در بین گروه‌ها تغییر نکرد، این نتیجه در تضاد با گزارش Mohamed و همکاران، (۲۰۱۷) است که نشان داد پروتئین کل سرم میش‌های تغذیه‌شده با نانو روی_متیونین در مقایسه با گروه کنترل افزایش‌یافته است. علل نتایج متفاوت با گزارش‌های قبلی به دلایل مختلفی مانند غلظت روی در جیره پایه یا شاهد، مشخصات شیمیایی منابع روی مورداستفاده، خلوص منابع روی، گونه حیوان، طول دوره آزمایش، مرحله تولید و عوامل مؤثر بر محلول بودن روی در دستگاه گوارش می‌باشد (Nayeri و همکاران، ۲۰۱۴ و Zaboli و همکاران، ۲۰۲۲).

نیتروژن اوره‌ای خون شاخص خوبی برای عملکرد کلیه است. اگر عملکرد کلیه کاهش یابد، سطح BUN افزایش می‌یابد؛ بنابراین، کاهش عددی سطح BUN در گروه‌های حاوی نانو اکسید روی در این مطالعه نشان داد که هیچ نشانه‌ای از اختلال عملکرد کلیه و همچنین هیچ نشانه‌ای از سمیت نانو اکسید روی در گاوهای شیری وجود ندارد. احتمالاً به دلیل سطح مصرف و مدت قرار گرفتن حیوانات آزمایشی با نانو اکسید روی می‌باشد. همانطور که توسط Swain و همکاران، (۲۰۱۸) گزارش‌شده است که سمیت نانو

اکسید روی با سطح مصرف و مدت قرار گرفتن در معرض نانو ذرات مرتبط است. افزایش عددی سطح سرمی عنصر روی در این مطالعه ممکن است به دلیل جذب بیشتر نانو اکسید روی باشد. گزارش‌شده است که نانو ذرات در قسمت دوازدهه روده باریک با انتقال فعال جذب می‌شوند و فرم نانو ذرات عناصر می‌توانند از روده باریک عبور کرده و بیشتر در خون انتشار گردند (Belewu و Adewumi، ۲۰۲۱) و همچنین نشان‌دهنده دسترسی بالاتر عنصر روی برای عملکردهای متابولیکی مختلف است. یافته‌های این پژوهش با یافته‌های Najafzadeh و همکاران، (۲۰۱۳) همخوانی داشت که افزایش سطح روی سرم را پس از مصرف خوراکی نانو اکسید روی در بره‌ها مشاهده کردند. همچنین یافته‌های Belewu و Adewumi، (۲۰۲۱) با نتایج مطالعه‌ی حاضر در یک راستا بود که در این مطالعه نیز مصرف نانو اکسید روی توسط بزهای شیری آفریقایی منجر به افزایش غلظت روی در سرم حیوان شد. بااین‌حال، Cope و همکاران، (۲۰۰۹) هیچ تغییری در غلظت روی پلاسما در گاوهای شیری که با جیره‌های مکمل شده با روی آلی (فرم نانو کیلاته شده) بودند گزارش نکردند؛ بنابراین، ازآنجایی‌که غلظت روی خون یک شاخص رایج روی در زمینه بالینی است، افزایش غلظت روی خون ممکن است ابزار مناسبی برای ارزیابی وضعیت روی بدن تلقی شود.

جدول ۳- تأثیر منابع مختلف روی بر برخی پارامترهای خونی گاوهای شیری هلشتاین

Table 3- The effect of different sources of zinc on some blood parameters of Holstein dairy cows

	شاهد Control	30	60	90	نانو اکسید روی ZnO-NPs (mg/KgDM)	خطای استاندارد میانگین‌ها (SEM)	سطح احتمال معنی‌داری (*P*-Value)
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	56.08	54.16	52.34	50.44		4.157	0.311
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl)	70.39	68.71	65.08	64.18		5.342	0.249
تری‌گلیسیرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Triglyceride (mg/dl)	19.33	18.50	16.11	17.22		2.056	0.679
پروتئین تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Total protein (mg/dl)	8.91	7.03	7.45	7.76		0.120	0.094
آلبومین (گرم در دسی‌لیتر) Albumin (g/dl)	3.91	3.86	3.74	3.66		0.877	0.532
اوره (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Urea (mg/dl)	15.87	15.43	14.92	15.65		1.286	0.749
آلکالین فسفاتاز (واحد در لیتر) Alkaline phosphatase (IU/L)	104.22	106.35	108.28	106.24		5.031	0.184
سوپر اکسید دیسموتاز (واحد در هر گرم هموگلوبین) Superoxide dismutase (IU g^{-1}Hb)	2124^{b}	2135^{b}	2183^{a}	2157^{a}		55.83	0.002
عنصر روی (میکروگرم در میلی‌لیتر) Zn (µg/mL)	1.13	1.26	1.39	1.50		0.098	0.325

SEM: خطای استاندارد میانگین‌ها؛ ^{a,b} حروف غیر مشترک در هر ردیف بیانگر تفاوت معنی‌دار است ($P\leq 0.05$).

Standard error of the mean (SEM); ^{a,b} Means within a row for each effect with different superscripts are different ($P\leq 0.05$).

نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان می‌دهند که مکمل غذایی ذرات نانو اکسید روی به ویژه با میزان بالا

(۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بـه ازای مـادهٔ خشـک جیـره)، در بهبود برخی ترکیبات شیر مانند SCC و فعالیت آنـزیم SOD سرم تأثیر معنـی‌داری داشـت. در سیسـتم‌هـای بیولوژیکی نانو مواد معدنی به دلیـل افـزایش سـطح و فعالیـت سـطحی، پتانسـیل بـالایی بـه‌عنـوان مکمـل خوراکی برای حیوانات مزرعه حتی در دوزهای بسیار پایین‌تر از منابع معدنی رایج دارند. با توجـه بـه نتـایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر و طبـق توصـیه انجمـن تحقیقات ملی آمریکا، (۲۰۲۱) پیشنهاد مـی‌گـردد کـه روزانه دریافـت ۶۰ میلـی‌گـرم روی (ZnO-NPs) در جیره گاوهای شیری می‌تواند نتیجـه مثبتـی بـر رونـد تولیدات آن‌ها داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان از کارکنـان مزرعـه تحقیقـاتی دانشـگاه تهران ـ محمد شـهر کـرج در بـه انجـام رسـاندن ایـن پژوهش که خاضعانه یاری‌رساندن کمال تشکر را دارد.

References

Abdollahi, M., Rezaei, J. & Fazaeli, H. (2020). Performance, rumen fermentation, blood minerals, leukocyte and antioxidant capacity of young Holstein calves receiving high-surface ZnO instead of common ZnO. *Archives of Animal Nutrition*, 74(3): 189-205.

Adegbeye, M. J., Elghandour, M. M., Barbabosa-Pliego, A., Monroy, J. C., Mellado, M., Reddy, P. R. K. & Salem, A. Z. (2019). Nanoparticles in equine nutrition: Mechanism of action and application as feed additives. *Journal of Equine Veterinary Science*, 78: 29-37.

Alijani, K., Rezaei, J. & Rouzbehan, Y. (2020). Effect of nano-ZnO, compared to ZnO and Zn-methionine, on performance, nutrient status, rumen fermentation, blood enzymes, ferric reducing antioxidant power and immunoglobulin G in sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 267: 114532.

Alimohamady, R., Aliarabi, H., Bruckmaier, R. M. & Christensen, R. G. (2019). Effect of different sources of supplemental zinc on performance, nutrient digestibility, and antioxidant enzyme activities in lambs. *Biological Trace Element Research*, 189: 75-84.

AOAC. (2005). *Official Method of Analysis*. Arlington, VA, US.

Arabi, F., Imandar, M., Negahdary, M., Imandar, M., Noughabi, M. T., Akbari-dastjerdi, H. & Fazilati, M. (2012). Investigation anti-bacterial effect of zinc oxide nanoparticles upon life of Listeria monocytogenes. *Annals of Biological Research*, 7: 3679-3685.

Auffan, M., Rose, J., Bottero, J. Y., Lowry, G. V., Jolivet, J. P. & Wiesner, M. R. (2009). Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature Nanotechnology*, 4(10): 634-641.

Bakhshizadeh, S., Aghjehgheshlagh, F. M., Taghizadeh, A., Seifdavati, J. & Navidshad, B. (2019). Effect of zinc sources on milk yield, milk composition and plasma concentration of metabolites in dairy cows. *South African Journal of Animal Science*, 49(5): 884-891.

Beek, W. J., Wienk, M. M., Kemerink, M., Yang, X. & Janssen, R. A. (2005). Hybrid zinc oxide conjugated polymer bulk heterojunction solar cells. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(19): 9505-9516.

Belewu, A. & Adewumi, D. (2021). Effect of green syntheses nano zinc oxide on performance characteristics and haematobiochemical profile of West African dwarf goats. *Animal Research International*, 18(1): 3938-3946.

Chandra, G., Aggarwal, A., Singh, A. K. & Kumar, M. (2015). Effect of vitamin E and zinc supplementation on milk yield, milk composition, and udder health in Sahiwal cows. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 15(1): 67-78.

Chen, J., Wang, W. & Wang, Z. (2011). Effect of nano-zinc oxide supplementation on rumen fermentation *in vitro*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 23(8): 1415-1421.

Cope, C. M., Mackenzie, A. M., Wilde, D., & Sinclair, L. A. 2009. Effects of level and form of dietary zinc on dairy cow performance and health. *Journal of Dairy Science*, 92(5): 2128-2135.

Cortinhas, C. S., Botaro, B. G., Sucupira, M. C. A., Rennó, F. P., & Santos, M. V. D. 2010. Antioxidant enzymes and somatic cell count in dairy cows fed with organic source of zinc, copper and selenium. *Livestock Science*, 127(1): 84-87.

El-Sabry, M. I., McMillin, K. W. & Sabliov, C. M. (2018). Nanotechnology considerations for poultry and livestock production systems–a review. *Annals of Animal Science*, 18(2): 319-334.

El-Sayed, A. & Kamel, M. (2020). Advanced applications of nanotechnology in veterinary medicine. *Environmental Science and Pollution Research*, 27: 19073-19086.

Goff, J. P. (2018). Invited review: Mineral absorption mechanisms, mineral interactions that affect acid–base and antioxidant status, and diet considerations to improve mineral status. *Journal of Dairy Science*, *101*(4): 2763-2813.

Hassan, A. A., Oraby, N. A., Mohamed, A. A. & Mahmoud, H. H. (2014). The possibility of using Zinc Oxide nanoparticles in controlling some fungal and bacterial strains isolated from buffaloes. *Egyptian Journal of Applied Sciences*, 29(3): 58-83.

Hosseini-Vardanjani, S. F., Rezaei, J., Karimi-Dehkordi, S. & Rouzbehan, Y. (2020). Effect of feeding nano-ZnO on performance, rumen fermentation, leukocytes, antioxidant capacity, blood serum enzymes and minerals of ewes. *Small Ruminant Research*, 191: 106170.

Hozyen, H. F., Ibrahim, E. S., Khairy, E. A. & El-Dek, S. I. (2019). Enhanced antibacterial activity of capped zinc oxide nanoparticles: A step towards the control of clinical bovine mastitis. *Veterinary world*, 12(8): 1225.

Kasiani, A., Rezayazdi, K. & Zhandi, M. (2021). Effects of replacing inorganic forms of manganese, zinc, copper and selenium with their organic source on growth performance of suckling Holstein calves. *Journal of Ruminant Research*, 9(1): 55-68. (In Persian).

Kinal, S., Korniewicz, A., Jamroz, D., Zieminski, R. & Slupczynska, M. (2005). Dietary effects of zinc, copper and manganese chelates and sulphates on dairy cows. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 3(1): 168-172.

Kujur, K., Ghosh, S., Batabyal, S. & Mukherjee, J. (2016). Effect of micronutrient supplementation on hormonal profile of local goat and sheep breeds of West Bengal. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 86(2): 224-225.

Kumar, A., Pandey, A. K., Singh, S. S., Shanker, R. & Dhawan, A. (2011). Engineered ZnO and TiO2 nanoparticles induce oxidative stress and DNA damage leading to reduced viability of *Escherichia coli*. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(10): 1872-1881.

Liu, Y. J., He, L. L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q. & Lin, M. S. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4): 1193-1201.

Mandal, G. P., Dass, R. S., Isore, D. P., Garg, A. K. & Ram, G. C. (2007). Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bos indicus*× *Bos Taurus*) bulls. *Animal Feed Science and Technology*, 138(1): 1-12.

Miller, W. J., Amos, H. E., Gentry, R. P., Blackmon, D. M., Durrance, R. M., Crowe, C. T. ... & Neathery, M. W. (1989). Long-term feeding of high zinc sulfate diets to lactating and gestating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 72(6): 1499-1508.

Mohamed, M. Y., Ibrahim, K., Abd El Ghany, F. T. & Mahgoup, A. A. S. (2017). Impact of nano-zinc oxide supplementation on productive performance and some biochemical parameters of ewes and offspring. *Egyptian Journal of Sheep and Goats Sciences*, 12(3): 1-16.

Najafzadeh, H., Ghoreishi, S. M., Mohammadian, B., Rahimi, E., Afzalzadeh, M. R., Kazemivarnamkhasti, M. & Ganjealidarani, H. (2013). Serum biochemical and

histopathological changes in liver and kidney in lambs after zinc oxide nanoparticles administration. *Veterinary World*, 6(8).

Nandanwar, A. K., Bhonsle, D., Prusty, S., Rajendran, D. & Thakre, A. (2022). Effect of nano zinc supplementation on hematological parameters and body condition score during transition period in sahiwal cows. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 39(2): 163-173.

Nayeri, A., Upah, N. C., Sucu, E. K. İ. N., Sanz-Fernandez, M. V., DeFrain, J. M., Gorden, P. J. & Baumgard, L. H. (2014). Effect of the ratio of zinc amino acid complex to zinc sulfate on the performance of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 97(7): 4392-4404.

NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. p. 293.

NRC. (2021). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 8th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC. p. 315.

Rahman, H. S., Othman, H. H., Abdullah, R., Edin, H. Y. A. S. & AL- Haj, N. A. (2022). Beneficial and toxicological aspects of zinc oxide nanoparticles in animals. *Veterinary Medicine and Science*, 8(4): 1769-1779.

Rajendran, D., Kumar, G., Ramakrishnan, S. & Shibi, T. K. (2013). Enhancing the milk production and immunity in Holstein Friesian crossbred cow by supplementing novel nano zinc oxide. *Research Journal of Biotechnology*, 8(5): 11-17.

SAS. (2003). *SAS User's Guide Statistics*. Version 9.1 Ed. SAS Inst., Inc., Cary NC.

Seifdavati, J., Jahan Ara, M., Seyfzadeh, S., Abdi Benamar, H., Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Seyedsharifi, R. & Vahedi, V. (2018). The Effects of zinc oxide nano particles on growth performance and blood metabolites and some serum enzymes in Holstein suckling calves. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 10(1): 23-33. (In Persian).

Sobhanirad, S. & Naserian, A. A. (2012). Effects of high dietary zinc concentration and zinc sources on hematology and biochemistry of blood serum in Holstein dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 177(3-4): 242-246.

Song, W., Zhang, J., Guo, J., Zhang, J., Ding, F., Li, L. & Sun, Z. (2010). Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles. *Toxicology Letters*, 199(3): 389-397.

Sun, Y. I., Oberley, L. W. & Li, Y. (1988). A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3): 497-500.

Swain, P. S., Rao, S. B. N., Rajendran, D., Soren, N. M., Pal, D. T. & Bhat, S. K. (2018). Effect of supplementation of nano zinc on rumen fermentation and fiber degradability in goats. *Animal Nutrition and Feed Technology*, 18(3): 297-309.

Tong, G. X., Du, F. F., Liang, Y., Hu, Q., Wu, R. N., Guan, J. G. & Hu, X. (2013). Polymorphous ZnO complex architectures: selective synthesis, mechanism, surface area and Zn-polar plane-codetermining antibacterial activity. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(4): 454-463.

Uchida, K., Mandebvu, P., Ballard, C. S., Sniffen, C. J. & Carter, M. P. (2001). Effect of feeding a combination of zinc, manganese and copper amino acid complexes, and cobalt glucoheptonate on performance of early lactation high producing dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, 93(3-4): 193-203.

Van Soest, P. V., Robertson, J. B. & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10): 3583-3597.

Youssef, F. S., El-Banna, H. A., Elzorba, H. Y. & Galal, A. M. (2019). Application of some nanoparticles in the field of veterinary medicine. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 7(1): 78-93.

Zaboli, K. & Elyasi, M. J. (2021). Effects of different amounts of zinc on performance and some blood and ruminal parameters in Holstein suckling calves. *Journal of Ruminant Research*, 9(3): 93-106. (In Persian).

Zaboli, K., Mehradkia, M. & Aliarabi, H. (2022). The effect of different levels of zinc on nutrients digestibility, ruminal parameters, nitrogen retention and ruminal protozoa in Mehraban male lambs. *Journal of Ruminant Research*, 10(3): 127-142. (In Persian).

Zirong, X. & Minqi, W. A. N. G. (2001). Approach of the Mechanism of Growth-promoting Effect of Pharmacological Level of Zine in Pigs. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 32(1): 11-17.