14(4) 333-344, Winter 2023

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Determining the best response level of performance parameters in broilers fed with different levels of aflatoxins and amino acids

Hadi Pajouhanfar [1], Farzad Bagherzadeh Kasmani [*1], Mehran Mehri [1], Mohammad Kamely [2], Hadi Faraji Arough [3]

[1] *Department of Animal Science, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran*
[2] *Department of Agricultural, Food and Nutritional Science, University of Alberta, Edmonton, Canada*
[3] *Department of Ostrich, Special Domestic Animals Institute, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran*

Key Words

Aflatoxin
Amino acids
Broiler
Central Composite Design
Growth performance

Abstract

Introduction: Food or feed contamination with aflatoxin B_1, which is a secondary and toxic metabolite of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, is a major problem in most parts of the world, especially in developing countries. Harmful consequences of the presence of aflatoxins in food encouraged the researchers to find the safe, effective and efficient procedures to control this toxin prior to entering the human food chains. The aim of this study was to investigate the effects of the amino acids glycine, glutamic acid and N-acetylcysteine on the growth performance of broilers under aflatoxicosis, and to determine optimum level of these amino acids.

Materials & Methods: 690 Ross 308 broilers in 17 experimental groups were fed with feeding 5 different levels of amino acids of glycine, glutamic acid, N-acetylcysteine and Aflatoxin with 4 replications and each replication included 10 chickens. Performance traits including feed intake, body weight gain and feed conversion ratio were measured weekly from one to 21 days of age. The results of performance traits were analyzed using the Response Surface Methodology (RSM) model and the central composite design.

Results: The results of the central composite design were more consistent and significant in broiler chickens with the quadratic regression model which had the highest values of R^2. The results of the present study showed the negative effects of aflatoxin on feed intake and body weight gain, which in turn increased the feed conversion ratio. The results also showed that supplementation of glycine, glutamic acid, N-acetylcysteine amino acids to the diet moderated the negative effects of aflatoxin B_1.

Conclusion: Dietary supplementation with three amino acids glycine, glutamic acid and N-acetylcysteine as the main precursors of glutathione can reduce the negative effects of aflatoxin on the performance parameters of broilers by improving the antioxidant system. Also, using the response level methodology by providing appropriate statistical and graphical information has a high ability to identify the superior model and determine the optimal level of these amino acids in the diet contaminated with aflatoxin.

* Corresponding Author's email: fbkasmani@yahoo.com
Received: 12 November 2021; Reviewed: 15 December 2021; Revised: 16 February 2022; Accepted: 20 March 2022
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.328112.2753

مقاله پژوهشی

تعیین بهترین سطح پاسخ در پارامترهای عملکردی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف آفلاتوکسین و اسیدهای آمینه

هادی پژوهانفر[۱]، فرزاد باقرزاده‌کاسمانی[۱]، مهران مهری[۱]، محمد کاملی[۲]، هادی فرجی‌آروق[۳]*

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۲] گروه کشاورزی و تغذیه، دانشگاه آلبرتا، ادمونتون، کانادا

[۳] گروه پژوهشی شترمرغ، پژوهشکده دام‌های خاص، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران

کلمات کلیدی

آفلاتوکسین
اسیدهای آمینه
جوجه گوشتی
طرح مرکب مرکزی
عملکرد رشد

چکیده

مقدمه: آلودگی خوراک یا غذا به آفلاتوکسین B_1، متابولیت ثانویه و سمی قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس، مشکل عمده اکثر نقاط دنیا، به‌خصوص کشورهای درحال توسعه می‌باشد. عواقب مضر حضور آفلاتوکسین در موادغذایی موجب شده تا محققین به‌دنبال روش‌های ایمن، موثر و کارآمد برای مهار این سم، قبل از ورود به چرخه غذایی انسان باشند. این تحقیق با هدف بررسی اثرات اسیدهای‌آمینه گلایسین، گلوتامیک اسید و ان-استیل سیستئین برعملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت آفلاتوکسیکوزیس و تعیین سطح مناسب این اسید آمینه‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها: از ٦٨۰ قطعه جوجه گوشتی راس ۳۰۸ در ۱۷ گروه آزمایشی با تغذیه ٥ سطح متفاوت اسیدهای آمینه گلایسین، گلوتامیک اسید، ان-استیل سیستئین و سم آفلاتوکسین با ٤ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه استفاده شد. صفات عملکردی شامل مصرف خوراک، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک بودند که به‌صورت هفتگی از سن یک تا ۲۱ روزگی اندازه‌گیری شد. نتایج صفات عملکردی با استفاده از مدل روش‌شناسی سطح پاسخ و با استفاده از طرح مرکب مرکزی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: نتایج طرح مرکب مرکزی با مدل‌رگرسیون درجه دو که دارای بیش‌ترین مقادیر R^2 بود تطابق بیش‌تر و معنی‌داری را درجوجه‌های گوشتی داشت. نتایج مطالعه حاضر اثرات منفی آفلاتوکسین بر صفات مصرف خوراک و افزایش وزن بدن را نشان داد که این خود باعث افزایش ضریب تبدیل خوراک شد. هم‌چنین نتایج نشان داد که افزودن اسیدآمینه‌های گلایسین، گلوتامیک‌اسید و ان-استیل سیستئین به جیره موجب تعدیل اثرات منفی آفلاتوکسین شد.

بحث و نتیجه‌گیری: مکمل‌سازی جیره با سه اسیدآمینه گلایسین، گلوتامیک اسید و ان-استیل سیستئین به‌عنوان پیش‌سازهای اصلی گلوتاتیون می‌توانند ازطریق بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی موجب کاهش اثرات منفی آفلاتوکسین بر پارامترهای عملکردی جوجه‌های گوشتی شوند. هم‌چنین، استفاده از روش‌شناسی سطح پاسخ با فراهم آوردن اطلاعات آماری و گرافیکی مناسب از توانایی بالایی در جهت تشخیص مدل برتر و تعیین سطح بهینه این اسیدهای آمینه در جیره آلوده به آفلاتوکسین برخوردار است.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: fbkasmani@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۲۱ آبان ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۲٤ آذر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۷ بهمن ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۹ اسفند ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2022.328112.2753

مقدمه

شواهد زیادی از اثرات منفی مواد غذایی آلوده به سموم قارچی نظیر آفلاتوکسین‌ها بر سلامت انسان و حیوانات وجود دارد. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های *Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus* می‌باشند و شامل آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 می‌باشند (۱). مسیر اصلی آلودگی به آفلاتوکسین‌ها از طریق خوراک بوده و این سموم در مواد خوراکی مختلف مانند کنجاله‌ها، غلات و علوفه‌ها مشاهده می‌شوند (۲). آفلاتوکسین‌ها به عنوان یکی از فاکتورهای شناخته شده در بروز سرطان کبد در سراسر جهان هستند. در بین تمامی متابولیت‌های آفلاتوکسین، آفلاتوکسین B1 توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به‌عنوان گروه ۱ در سرطان‌زایی انسان طبقه‌بندی شده (۳) و در معرض قرارگیری طولانی مدت به این سم با سرطانی شدن سلول‌های کبدی در ارتباط است (۴). روش‌های متنوع فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای مهار اثرات آفلاتوکسین‌ها وجود دارد. افزایش استقبال از مصرف مواد غذایی سالم و طبیعی، منجر به توسعه استفاده از روش‌های بیولوژیک شده است (۵). استفاده از جیره‌های با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا یکی از روش‌های مهار آفلاتوکسین‌ها می‌باشد (۶). مکمل‌های خوراکی اسید گلوتامیک، گلایسین و ان-استیل سیستئین به‌طور مستقیم و یا غیر مستقیم دارای خواص آنتی‌اکسیدانی در جیره می‌باشند (۷، ۸). اسید گلوتامیک یکی از اسیدهای آمینه مهم با طیف وسیعی از کاربردها است. استفاده از مشتقات نمکی آن در جیره، علاوه بر اثر روی متابولیسم، به‌عنوان پیش‌ساز مواد مختلف در بدن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹، ۱۰). در سطح روده کوچک، گلوتامین به راحتی توسط گلوتامیناز به گلوتامیک اسید تبدیل می‌شود (۱۱). این اسیدآمینه پیش‌ساز اختصاصی برای سنتز گلوتاتیون است. بنابراین گلوتامات روده‌ای و سنتز گلوتاتیون از اهمیت حیاتی در متابولیسم روده و سلامت آن برخوردار هستند (۱۲، ۱۱، ۱۳). گلایسین ساده‌ترین اسیدآمینه در طبیعت است و ساختار شیمیایی D یا L ندارد (۱۴). این اسیدآمینه ترکیب اصلی پروتئین‌های ساختاری در خارج سلول حیوانات مانند کلاژن و الاستین است (۱۵). گلایسین به‌طور معمول به‌علت سنتز درون‌زادی آن در بدن، به‌عنوان اسیدآمینه غیرضروری برای تغذیه پستانداران از جمله انسان، خوک و جوندگان طبقه‌بندی می‌شود (۱۶، ۱۷). علی‌رغم این‌که کمبود جزئی گلایسین برای زندگی تهدیدی به شمار نمی‌آید، کمبود مزمن آن ممکن است موجب رشد کم‌تر از حد مطلوب، اختلال در عملکرد سیستم ایمنی، اثرات نامطلوب بر سلامت حیوان و متابولیسم مواد مغذی شود (۱۸، ۱۹، ۲۰). محققین هم‌چنین بیان نمودند که مکمل‌سازی جیره جوجه‌های گوشتی با اسیدهای آمینه گلوتامات و گلایسین، منجر به بهبود عملکرد آن‌ها می‌شود (۲۱). در طی دهه‌های گذشته ان-استیل سیستئین به‌طور فزاینده‌ای به‌عنوان آنتی‌اکسیدان و عامل بالقوه پیشگیری‌کننده سرطان شناخته شده است (۲۲). پیشنهاد شده است که ان-استیل سیستئین با افزایش غلظت درون سلولی سیستئین و پس از آن افزایش گلوتاتیون احیا (GSH) در خنثی نمودن رادیکال‌های آزاد نقش دارد (۲۳). هم‌چنین، در جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره آلوده به آفلاتوکسین B1 سبب افزایش سطح GSH سیتوزولی و میتوکندریایی و کاهش سمیت آفلاتوکسین شد (۲۴). آفلاتوکسین‌ها تقریباً تمام پارامترهای تولیدی طیور نظیر افزایش وزن، مصرف خوراک، ضریب تبدیل، تولید تخم و باروری جنس‌های نر و ماده را به مخاطره می‌اندازند. اثرات زیان‌آور و نامطلوب آفلاتوکسین بر بازدهی طیور به دو عامل میزان سم و مدت زمان قرارگرفتن در معرض سم بستگی دارد. مهم‌ترین نشانه بالینی در گله گوشتی مبتلا به آفلاتوکسیکوزیس، تأخیر در رشد و کاهش وزن می‌باشد. ازجمله نشانه‌های دیگر می‌توان به کاهش میزان مصرف آب و غذا، اختلالات مربوط به پاها و مرگ اشاره کرد (۲۵). از اثرات آفلاتوکسیکوزیس در شکل مزمن می‌توان به افزایش حجم چربی و بزرگی کبد، کم‌خونی، نفوذپذیری عروق، افزایش زمان انعقاد خون و خون‌ریزی عمومی، اسهال آبکی و چرب، اختلال در متابولیسم چربی‌ها، لاغری، کاهش تولید تخم، افزایش تخم‌های بی‌نطفه، پایین آمدن قدرت دفاعی بدن، تضعیف عملکرد سیستم ایمنی بدن، عدم پاسخ مناسب در برابر آنتی‌ژن‌ها و واکسن‌ها اشاره کرد. ضمن این‌که، گوشت و تخم ماکیان در وضعیت فوق، از منابع خطرناک سرایت آفلاتوکسیکوزیس به انسان محسوب می‌شوند (۲۷). در مطالعه‌ای روی جوجه‌های گوشتی مشاهده شد که مصرف آفلاتوکسین B1 علاوه بر اثرات منفی بر عملکرد، با افزایش غلظت مالون‌دی‌آلدئید و کاهش محتوای GSH، موجب بروز استرس اکسیداتیو در کبد شد. اما، مصرف ان-استیل سیستئین در جوجه‌های مصرف‌کننده خوراک آلوده به آفلاتوکسین B1 به‌طور قابل توجهی از اثرات منفی این سم بر افزایش وزن بدن، سطح گلوتاتیون کبدی، پروتئین پلاسما و کبد جلوگیری کرد و ضایعات بافتی ناشی از آفلاتوکسین را کاهش داد (۲۸). روش شناسی سطح پاسخ (Response Surface Methodology:RSM) مجموعه‌ای از ابزارهای آماری و ریاضی است که در آزمایشات تحقیقاتی به‌کار گرفته می‌شود. این روش اطلاعات فراوانی را از واحدهای آزمایشی کوچک تهیه می‌کند (۲۹). با استفاده از این روش امکان مشاهده اثرات متقابل سینرژیستیک یا آنتاگونیستیک پارامترهای غیروابسته به‌هم در پاسخ‌ها مشخص می‌شود (۳۰). روش شناسی سطح پاسخ خود دارای دو تکنیک است. ۱) طرح مرکب مرکزی (Central Composite Design: CCD) که هم‌زمان می‌تواند ۲ تا ۹ فاکتور (متغیر مستقل)

را با تعداد زیادی پاسخ (متغیر وابسته) مدل‌سازی و بهینه نماید. ۲) جعبه بهنکن (Design Box- Behnken) که ۳ الی ۷ فاکتور را با تعداد زیادی پاسخ (متغیر وابسته) مدل‌سازی و بهینه می‌کند. طرح مرکب مرکزی یکی از پرکاربردترین روش‌ها در روش‌شناسی سطح پاسخ است (۳۱) و از آن جهت ساخت مدل‌های کوارتراتیک (درجه دو) استفاده می‌شود و نیازی به استفاده از آزمایشات فاکتوریل نمی‌باشد (۳۲). نتایج موفقیت‌آمیز این روش در تحقیقات متعددی در جهت بهبود تعیین نیازهای غذایی طیور پیش‌تر گزارش شده‌است (۳۳، ۳۴). نکته قابل توجه این‌که برای استفاده از این روش‌ها، از ابتدا طراحی تیمارها نیز باید به‌وسیله همین روش‌ها انجام گیرد تا امکان تحلیل داده‌ها و تعیین سطوح بهینه به‌همین روش‌ها میسر باشد (۳۵). با توجه به مطالب فوق، این مطالعه با هدف بررسی تعیین سطح مناسب اسید گلوتامیک، گلایسین و ان-استیل سیستئین برای کاهش اثرات آفلاتوکسین B1 با استفاده از طرح مرکب مرکزی بر روی جوجه‌های گوشتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرندگان و تیمارهای آزمایشی: در این پژوهش ۶۸۰ قطعه جوجه گوشتی راس ۳۰۸ در ۱۷ گروه آزمایشی با تغذیه ۵ سطح متفاوت اسیدهای آمینه گلایسین، گلوتامیک اسید، ان-استیل سیستئین و سم آفلاتوکسین با ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه جوجه با استفاده از طرح مرکب مرکزی تقسیم‌بندی شدند. مدت زمان آزمایش از سن یک روزگی تا پایان هفته سوم پرورش (۲۱ روزگی) در نظر گرفته شد. طرح آماری مورد استفاده در این آزمایش طرح مرکب مرکزی فاکتوریل است. این طرح شامل F نقطه فاکتوریل، ۲×k نقطه محوری که در فاصله α± از نقطه مرکزی قرارگرفته است، ($\alpha= 2^{k/4}=2^{4/4}=2$) و k تعداد فاکتورهای رژیم غذایی است. nc نقطه مرکزی است. نقاط فاکتوریل برای برازش اثرات خطی و متقابل استفاده می‌شوند. نقاط محوری، سطوح اضافی از فاکتور را برای برآورد درجه دو فراهم می‌کند (۳۶). سطوح مواد افزوده شده:

گلایسین (گرم/کیلوگرم): صفر، ۲، ۵، ۸، ۱۰،

گلوتامیک اسید (گرم/کیلوگرم): صفر، ۲/۵۳، ۶/۲۵، ۱۰، ۱۲/۵

ان-استیل سیستئین (گرم/کیلوگرم): صفر، ۰/۲۵۳، ۰/۶۲۵، ۱، ۱/۲۵

آفلاتوکسین (ppm): صفر، ۰/۵، ۱/۲۵، ۲، ۲/۵

تولید سم آفلاتوکسین جهت استفاده در آزمایشات مزرعه‌ای: قارچ *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* از کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد و پس از کشت‌های اولیه قارچ طبق پروتکل پیشنهادی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی، نمونه مورد نیاز با جمعیت مناسب و تراکم کافی بروی محیط کشت ثانویه یعنی دانه ذرت منتقل شد (۳۷). قارچ‌های کشت شده بروی ذرت به‌وسیله اتوکلاو غیرفعال و پس از آسیاب و تعیین محتوای سم به‌روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، ذرت‌های آلوده به میزان مناسب به جیره‌های هر تیمار اضافه شدند. در طول دوره آزمایش آب و خوراک آزادانه در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت و شرایط محیطی شامل دما، رطوبت و نور مناسب به‌طور کاملاً یکسان رعایت شدند. پارامترهای عملکرد شامل وزن بدن، مقدار خوراک مصرفی و ضریب تبدیل به‌صورت هفتگی اندازه‌گیری و ثبت شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: مدل رگرسیونی برای تحقیق حاضر به‌صورت زیر بود:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i \chi_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_{ii} \chi_i^2 + \sum_{i<j} \sum \beta_{ij} \chi_i \chi_j$$

Y=صفات مورد مطالعه، β_0 =عرض از مبدأ، β_i، β_{ii} و β_{ij} = ضرایب که توسط مدل برآورد شدند، K= تعداد متغیر، Xi= میزان تخمینی پارامتر

به کمک نرم‌افزار آماری Design-Expert، پنج مرحله شامل طراحی آزمایش (Experimental Design)، تجزیه و تحلیل داده‌ها (Experimental Analyses)، غربالگری و حذف فاکتورهای غیرمعنی‌دار و تجدید مدل ریاضی تا رسیدن به مدل قابل قبول (Screening)، بهینه‌سازی (Optimization) و یافتن ناحیه و نقطه بهینه ادامه یافت. در نهایت اعتبارسنجی (Validation) یافته‌ها و نقطه بهینه به کمک نرم‌افزار آماری صورت گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی چهار مدل رگرسیون خطی (Linear)، درجه دو (Quadratic)، درجه سه (Cubic) و ضرب برداری (Cross product) در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان داد که مدل رگرسیون درجه دو با بیش‌ترین میزان R2 بهترین ارزیابی را از داده‌ها انجام داد به‌طوری‌که برای همه صفات به‌جز صفت ضریب تبدیل خوراک در هفته سوم، نتایج رگرسیون درجه دو مربوط به در سایر صفات عملکردی و در هفته‌های مختلف معنی‌دار بود. اگرچه مدل رگرسیون خطی و برخی از مدل‌های درجه ۳ و ضرب برداری در برخی از صفات نیز معنی‌دار بودند اما چون میزان R2 بالایی نداشتند در تبیین جیره غذایی ایده‌آل قرار نگرفتند. براساس نتایج روش‌شناسی سطح پاسخ با استفاده از روش CCD، مصرف خوراک در طول هفته اول، هفته دوم، هفته سوم و کل دوره آزمایش تحت تأثیر افزودن آفلاتوکسین،

ان-استیل سیستئین، گلوتامیک اسید و گلایسین به جیره آزمایشی قرار گرفت (جدول ۱). در صفت خوراک مصرفی، R2 مدل درجه دو طبق جدول در هفته اول ۰/۵۱۴۵، هفته دوم ۰/۵۵۷۹، هفته سوم ۰/۶۸۱۸ و مصرف خوراک کل دوره آزمایش ۰/۶۴۶۲ برآورد شد. در صفت افزایش وزن بدن R2 مدل درجه دو برای هفته‌های اول، دوم، سوم و کل دوره به‌ترتیب ۰/۶۹۳۳، ۰/۵۴۱۲، ۰/۶۹۵۲ و ۰/۶۷۲۱ بود و در صفت ضریب تبدیل خوراک در هفته‌های اول، دوم و کل دوره مدل درجه دوم معنی‌دار بود و R2 مدل درجه دو به‌ترتیب ۰/۴۴۰۴، ۰/۳۳۲۹و ۰/۷۲۹۳ می‌باشد اما در هفته سوم مدل Cross product بهترین پیش‌بینی مدل را انجام داد؛ لذا اثرات اصلی درجه دوم مواد اضافه شده به جیره غذایی در فرمولاسیون تغذیه‌ای قرار نگرفتند.

جدول ۱: مقادیر R2 آزمون ANOVA در پاسخ به مدل‌های مختلف تجزیه و تحلیل درباره صفات خوراک مصرفی، افزایش وزن بدن و ضریب تبدیل خوراک

دوره	صفات	Cubic	Quadratic	Cross-product	Linear
	خوراک مصرفی	۰/۵۵۵ (۰/۰۳۹۶)	**۰/۵۱۴۵ (۰/۰۰۰۸)***	۰/۳۵۸۴ (۰/۸۷۲۷)	۰/۳۹۴۸ (۰/۰۰۰۱)
هفته اول	افزایش وزن بدن	۰/۵۷۴۲ (۰/۷۲۴۶)	**۰/۶۹۳۳ (۰/۰۰۳۱)***	۰/۶۱۷۰ (۰/۰۰۰۱)	۰/۴۲۷۱ (۰/۰۰۰۱)
	ضریب تبدیل خوراک	۰/۴۴۸۰ (۰/۲۶۳۷)	**۰/۴۴۰۴ (۰/۰۴۴۲)***	۰/۳۷۶۲ (۰/۰۰۰۵)	۰/۱۵۲۱ (۰/۰۰۵۹)
	خوراک مصرفی	۰/۵۹۹۸ (۰/۰۲۹۵)	**۰/۵۵۷۹ (۰/۰۲۱۱)***	۰/۴۹۰۹ (۰/۰۰۰۵)	۰/۳۰۴۹ (۰/۰۰۰۱)
هفته دوم	افزایش وزن بدن	۰/۵۱۷۸ (۰/۲۹۳۱)	**۰/۵۴۱۲ (۰/۰۰۶۵)***	۰/۴۸۵۶ (۰/۰۰۰۱)	۰/۳۶۵۲ (۰/۰۰۰۱)
	ضریب تبدیل خوراک	۰/۳۲۹۲ (۰/۴۳۱۸)	**۰/۳۳۲۹ (۰/۰۲۷۵)***	۰/۲۴۰۶ (۰/۰۱۷۳)	۰/۱۰۷۷ (۰/۰۲۴۱)
	خوراک مصرفی	۰/۷۰۲۸ (۰/۰۶۵۳)	**۰/۶۸۱۸ (۰/۰۷۹۸)***	۰/۶۵۴۶ (۰/۰۱۷۱)	۰/۵۹۳۹ (۰/۰۰۰۱)
هفته سوم	افزایش وزن بدن	۰/۷۰۰۵ (۰/۲۴۰۲)	**۰/۶۹۵۲ (۰/۰۲۳۸)***	۰/۶۵۰۸ (۰/۰۳۹۷)	۰/۶۰۴۷ (۰/۰۰۰۱)
	ضریب تبدیل خوراک	۰/۵۷۳۳ (۰/۹۲۹۱)	۰/۵۸۸۳ (۰/۳۸۴۶)	**۰/۵۸۶۵ (۰/۰۰۲۵)***	۰/۴۷۲۲ (۰/۰۰۰۱)
	خوراک مصرفی	۰/۶۵۶۲ (۰/۱۸۰۲)	**۰/۶۴۶۲ (۰/۰۵۲۸)***	۰/۶۰۸۷ (۰/۰۰۴۲)	۰/۵۱۱۲ (۰/۰۰۰۱)
کل دوره	افزایش وزن بدن	۰/۶۹۸۷ (۰/۰۴۳۵)	**۰/۶۷۲۱ (۰/۰۳۰۶)***	۰/۶۲۸۵ (۰/۰۰۲۶)	۰/۵۲۶۹ (۰/۰۰۰۱)
	ضریب تبدیل خوراک	۰/۷۸۱۱ (۰/۰۰۱۷)	**۰/۷۲۹۳ (۰/۰۰۰۱)***	۰/۶۱۶۲ (۰/۰۰۰۱)	۰/۲۴۶۷ (۰/۰۰۰۲)

تأثیرات افزودن ۴ ماده آزمایشی به خوراک جوجه گوشتی بر مصرف خوراک در هفته اول در جدول ۲ نشان داده شده است. بر این اساس آفلاتوکسین تأثیر منفی بر مدل داشته اما اثرات اصلی گلوتامیک اسید و گلایسین به‌صورت درجه دو تأثیرات مثبت و معنی‌داری داشتند. بنابراین معادله محاسبه خوراک مصرفی در هفته اول از طریق زیر محاسبه می‌شود: معادله (۱):

Feed intake=131.35-2.38(AFB)+2.06(Glu)+2.28(AFB×AFB)
+1.13(Gly+Gly)

در طول هفته دوم میزان تأثیر منفی آفلاتوکسین بیش‌تر از هفته اول بود (۱۹/۹۳) و این اثر بر اثر متقابل آفلاتوکسین×NAC، آفلاتوکسین×گلوتامیک اسید و آفلاتوکسین×گلایسین نیز اثر منفی معنی‌دار داشت. مصرف خوراک نیز در این هفته افزایش یافت (۳۲۴/۵۵g) (جدول ۳). در این هفته معادله محاسبه خوراک مصرفی به‌شرح زیر تغییر یافت: معادله (۲):

Feed intake=324.55-19.93(AFB)-12.52(NAC×AFB)
-13.37(Glu×AFB) -12.20(Gly×AFB) -10.46(Glu×Gly)
(AFB×AFB)

در طول هفته سوم اثرات مثبت گلایسین، گلوتامیک اسید و ان استیل سیستئین معنی‌دار نبود اما اثر اصلی آفلاتوکسین و اثرات متقابل NAC×گلوتامیک‌اسیدو هم‌چنین گلایسین×گلوتامیک اسید تأثیرمنفی بر روی‌مدل داشتند (جدول۴) لذا معادله خوراک مصرفی تحت تأثیر عوامل زیر قرار گرفت: معادله (۳):

Feed intake =508.08-37.12(AFB)-11.45(Glu×NAC)-12.54
(AFB×AFB)-14.03(Gly×Glu)

به‌طورکل با مطالعه خوراک مصرفی در طول کل دوره مطالعه مشاهده شد که بیش‌ترین تأثیرات مستقیم و هم‌چنین درجه ۲ آفلاتوکسین، اثر متقابل آفلاتوکسین×گلوتامیک اسید و اثر متقابل گلوتامیک اسید×گلایسین ناشی می‌شود (جدول ۵). مصرف خوراک مصرفی در پایان دوره تحت تأثیر سمیت آفلاتوکسین به ۶۸۷/۳۵ رسید و معادله نهایی به‌دست آمد: معادله (۴):

Feed intake = 687.35-56.01(AFB)-23.88(Glu×AFB)-22.52
(AFB×AFB)-21.92(Gly×Glu)

اثر منفی آفلاتوکسین بر روی افزایش وزن بدن معنی‌دار نبود اما تأثیر گلوتامیک‌اسید و ان استیل سیستئین بر روی مدل خروجی مثبت‌و معنی‌دار بود. در این‌بین اثر متقابل آفلاتوکسین× گلوتامیک

اسید منفی و اثر آفلاتوکسین بر گلایسین مثبت و معنی‌دار بود (جدول ۲). براساس شکل ۱ که اثر متقابل و هم‌زمان آفلاتوکسین× گلوتامیک اسید را بر روی افزایش وزن بدن در هفته اول نشان می‌دهد، حداکثر میزان وزن بدن در پایین‌ترین سطوح آفلاتوکسین و حداکثر مقدار گلوتامیک اسید به‌دست آمد. این در شرایطی بود که اثر سایر مکمل‌های غذایی ثابت در نظر گرفته شده است. در شکل ۲ نیز اثر متقابل آفلاتوکسین × گلایسین در شرایط ثابت بودن سایر مکمل‌ها را به‌طور هم‌زمان نشان می‌دهد و بیان کننده این مطلب است که در دو حالت میزان افزایش وزن بدن بیش‌تر است؛ اول زمانی که حداقل مقدار آفلاتوکسین و گلایسین در هفته اول وجود دارد و دیگر آن که در صورت افزایش میزان آفلاتوکسین در جیره غذایی میزان گلایسین نیز باید افزایش یابد تا از اثرات سوء مصرف سم کاسته شود. این امر به‌خوبی مشاهده می‌شود که در صورت افزایش میزان آفلاتوکسین و حداقل مقدار گلایسین به حداقل مقدار افزایش وزن دست خواهیم یافت. در ادامه انجام مطالعه و روند زمانی اثر آفلاتوکسین در طول هفته دوم و سوم کاملا مشهود و معنی‌دار است (جداول ۳ تا ۵ به‌ترتیب). بر اساس موارد فوق معادلات زیر برای جیره‌های غذایی در طول هفته اول تا سوم و کل دوره به‌دست آمد: معادله (۵):

Body gain first week =109.31 +3.42(NAC) +4.02(Glu) -3.52 (Gly×Gly) +1.51(Gly×AFB) +3.40(Glu×AFB)

معادله (۶):

Body gain second week =-225.31 +26.65 (AFB) -10.49 (AFB×AFB) +9.52(NAC×AFB) +10.57(Glu×AFB) -7.19(Gly×AFB) -12.07(Glu×NAC) -12.86(Gly×NAC) -11.36(Gly×Glu)

معادله (۷):

Body weight third week =-349.31 +36.08 (AFB) -11.87 (AFB×AFB) -13.58(Gly×Glu)

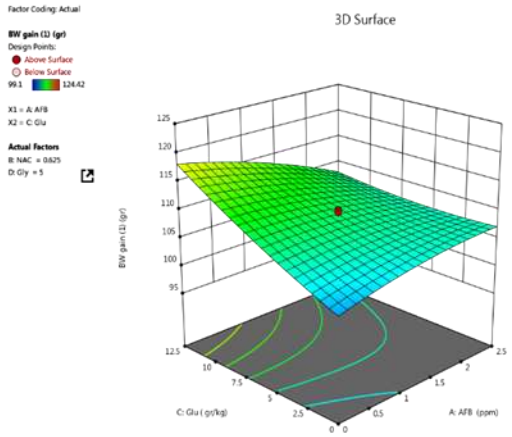
معادله (۸):

Body gain total = -965.61 +59.43 (AFB) +15.17(Glu) -23.16 (AFB×AFB) -18.77(Glu×AFB) -25.34(Glu×NAC) -24.43(Gly×Glu)

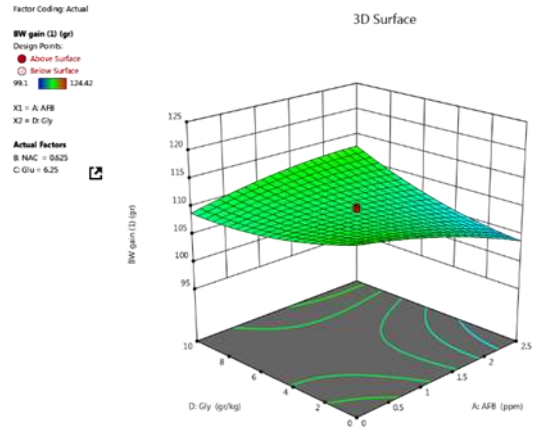
جدول۲: ضرایب برآورد شده برای اثرات اصلی و متقابل آفلاتوکسین، ان استیل سیستئین، گلوتامیک اسید و گلاسین بر صفات مورد مطالعه در هفته اول

پارامترهای مورد مطالعه	خوراک مصرفی		افزایش وزن بدن		ضریب تبدیل خوراک	
	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value
مدل	**۱۳۱/۳۵* ±۱/۲۷**	**۰/۰۰۰۱**	**۱۰۹/۳۱ ±۱/۵۰**	**۰/۰۰۰۱**	**۱/۲۰ ±۰/۰۲۰۸**	**۰/۰۰۰۱**
آفلاتوکسین-A	**-۲/۳۸* ±۰/۶۴۲۷**	**۰/۰۰۰۵**	-۱/۴۶ ±۰/۷۵۸۹۹	۰/۰۵۹۴	-۰/۰۰۵۵ ±۰/۰۱۰۶	۰/۶۰۶۸
ان استیل سیستئین-B	-۰/۴۳۲۶±۰/۶۴۲۷	۰/۵۰۳۸	**۳/۴۲ ±۰/۷۵۸۹**	**۰/۰۰۰۱**	**-۰/۰۴۱۳ ±۰/۰۱۰۶**	**۰/۰۰۰۳**
گلوتامیک اسید-C	**۲/۰۶* ±۰/۴۱۳۶**	**۰/۰۰۰۱**	**۴/۰۲ ±۰/۴۸۸۴**	**۰/۰۰۰۱**	**۰/۰۲۴۵ ±۰/۰۰۶۸**	**۰/۰۰۰۷**
گلایسین-D	-۰/۶۱۳۲±۰/۶۴۲۷	۰/۳۴۴۴	۱/۰۵ ±۰/۷۵۸۹	۰/۱۷۱۳	-۰/۰۱۶۲ ±۰/۰۱۰۶	۰/۱۳۰۵
AB	۰/۹۸۲۹ ±۰/۸۳۹۷	۰/۲۴۷۱	۱/۲۱ ±۰/۹۹۱۶	۰/۲۲۸۰	-۰/۰۰۱۹ ±۰/۰۱۳۸	۰/۸۸۹۱
AC	۰/۰۳۳۵ ±۰/۵۴۰۴	۰/۹۵۰۷	**-۳/۵۲ ±۰/۶۳۸۲**	**۰/۰۰۰۱**	**۰/۰۳۹۵ ±۰/۰۰۸۹**	**۰/۰۰۰۱**
AD	-۰/۶۳۲۳ ±۰/۸۳۹۷	۰/۴۵۴۸	**۳/۴۰ ±۰/۹۹۱۶**	**۰/۰۰۱۲**	**-۰/۰۴۳۰ ±۰/۰۱۳۸**	**۰/۰۰۳۰**
BC	۰/۳۰۷۹ ±۰/۵۴۰۴	۰/۵۷۱۳	-۰/۱۰۵۵ ±۰/۶۳۸۲	۰/۸۶۹۳	۰/۰۰۵۷ ±۰/۰۰۸۹	۰/۵۲۷۲
BD	-۰/۴۳۷۰ ±۰/۸۳۹۷	۰/۶۰۵۰	۱/۵۹ ±۰/۹۹۱۶	۰/۱۱۵۲	-۰/۰۱۹۴ ±۰/۰۱۳۸	۰/۱۶۴۸
CD	-۰/۴۴۴۱ ±۰/۵۴۰۴	۰/۴۱۴۹	-۰/۳۱۹۲ ±۰/۶۳۸۲	۰/۶۱۹۰	-۰/۰۰۰۱ ±۰/۰۰۸۹	۰/۹۸۸۷
A^2	۰/۵۷۸۹ ±۰/۵۰۱۵	۰/۲۵۳۵	-۱/۰۱ ±۰/۵۹۲۲	۰/۰۹۴۴	۰/۰۱۶۸ ±۰/۰۰۸۲	۰/۰۴۶۲
B^2	**۲/۲۸* ±۰/۵۰۱۵**	**۰/۰۰۰۱**	۰/۷۴۴۳ ±۰/۵۹۲۲	۰/۲۱۴۳	۰/۰۱۴۱ ±۰/۰۰۸۲	۰/۰۹۳۵
C^2	۰/۵۷۹۷ ±۰/۵۰۱۵	۰/۲۵۲۸	۰/۷۸۰۱ ±۰/۵۹۲۲	۰/۱۹۳۴	۰/۰۰۲۰ ±۰/۰۰۸۲	۰/۸۰۸۱
D^2	**۱/۱۳* ±۰/۵۰۱۵**	**۰/۰۲۸۴**	**۱/۵۱ ±۰/۵۹۲۲**	**۰/۰۱۳۵**	۰/۰۰۵۶ ±۰/۰۰۸۲	۰/۵۰۱۰

نتایج تجزیه CCD نیز نشان داد که سطوح مختلف آفلاتوکسین بر میزان ضریب تبدیل خوراک مؤثر بود. در هفته اول اثرات اصلی ان استیل سیستئین و گلوتامیک اسید و اثرات متقابل آفلاتوکسین× گلوتامیک اسید و هم‌چنین آفلاتوکسین×گلایسین معنی‌دار بود (جدول ۲). براساس مدل اثرات متقابل هفته اول (شکل ۳)، بیش‌ترین میزان ضریب تبدیل خوراک در حداقل مقادیر آفلاتوکسین×گلوتامیک اسید به‌دست آمد. این در حالی است که به مرور زمان و در پایان دوره و افزایش میزان آفلاتوکسین در بدن جوجه‌ها میزان تبدیل خوراک نیز بیش‌تر می‌شود. در این بین نیز میزان گلوتامیک اسید جهت خنثی سازی اثرات منفی سمیت آفلاتوکسین نیز افزایش خواهد یافت (شکل ۴).



شکل ۱: اثر متقابل آفلاتوکسین × گلوتامیک اسید به‌طور هم‌زمان بر مقدار افزایش وزن بدن

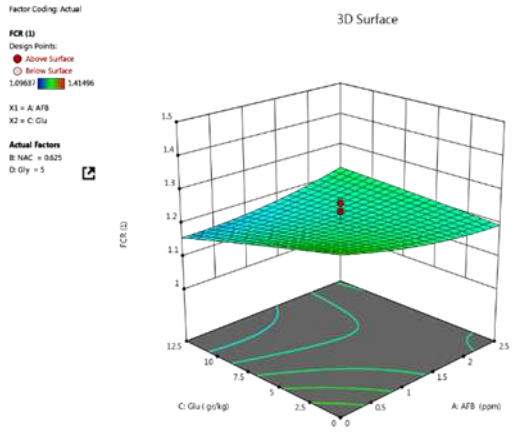


شکل ۲: اثر متقابل آفلاتوکسین× گلایسین به‌طور هم‌زمان بر مقدار افزایش وزن بدن

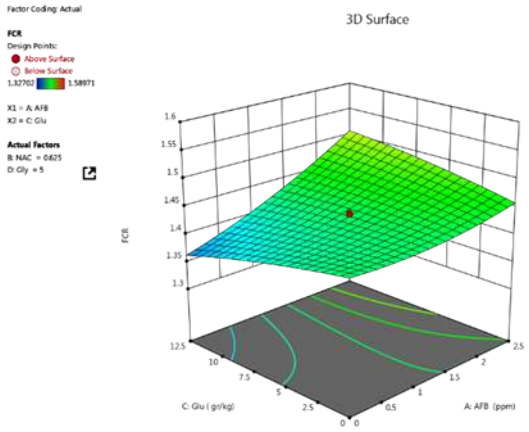
جدول ۳: ضرایب برآورد شده برای اثرات اصلی و متقابل آفلاتوکسین، ان استیل سیستئین، گلوتامیک اسید و گلاسین بر صفات مورد مطالعه در هفته دوم

parameter	خوراک مصرفی		افزایش وزن بدن		ضریب تبدیل خوراک	
	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value
مدل	**۳۲۴/۵۵ ±۹/۰۵**	**۰/۰۰۰۱**	**۲۲۵/۳۱ ±۷/۷۴**	**۰/۰۰۰۱**	**۱/۴۵ ±۰/۰۴۶۷**	**۰/۰۰۶**
آفلاتوکسین-A	**-۱۹/۹۳ ±۴/۶۰**	**۰/۰۰۰۱**	**-۲۶/۶۵ ±۳/۹۳**	**۰/۰۰۰۱**	**۰/۱۱۸۳ ±۰/۰۲۳۷**	**۰/۰۰۰۱**
ان استیل سیستئین-B	-۷/۲۶ ±۴/۶۰	۰/۱۲۰۰	-۱/۹۳ ±۳/۹۳	۰/۶۲۵۱	-۰/۰۱۸۸ ±۰/۰۲۳۷	۰/۴۳۰۳
گلوتامیک اسید-C	۴/۶۳ ±۲/۹۶	۰/۱۲۳۵	۴/۹۴ ±۲/۵۳	۰/۰۵۵۹	-۰/۰۱۳۰ ±۰/۰۱۵۲	۰/۳۹۸۷
گلایسین-D	-۰/۷۵۴۴ ±۴/۶۰	۰/۸۷۰۲	۱/۲۰±۳/۹۳	۰/۷۶۱۹	-۰/۰۱۱۳ ±۰/۰۲۳۷	۰/۶۳۵۴
AB	**-۱۲/۵۲ ±۶/۰۱**	**۰/۰۴۱۹**	**-۱۰/۴۹ ±۵/۱۳**	**۰/۰۴۶۰**	۰/۰۱۷۰ ±۰/۰۳۱۰	۰/۵۸۵۶
AC	**-۱۲/۸۳ ±۳/۸۶**	**۰/۰۰۱۶**	**-۹/۵۲ ±۳/۳۰**	**۰/۰۰۵۷**	۰/۰۰۷۷ ±۰/۰۱۹۹	۰/۷۰۰۴
AD	**-۱۳/۳۷ ±۶/۰۱**	**۰/۰۳۰۲**	**-۱۰/۵۷ ±۵/۱۳**	**۰/۰۴۴۵**	۰/۰۱۶۳ ±۰/۰۳۱۰	۰/۶۰۱۸
BC	-۶/۸۴ ±۳/۸۶	۰/۰۸۲۳	**-۷/۱۹ ±۳/۳۰**	**۰/۰۳۴۰**	۰/۰۱۷۶ ±۰/۰۱۹۹	۰/۳۸۱۱
BD	-۰/۱۲۵۹ ±۶/۰۱	۰/۹۸۳۳	**-۱۲/۰۷ ±۵/۱۳**	**۰/۰۲۲۴**	**۰/۱۱۹۴ ±۰/۰۳۱۰**	**۰/۰۰۰۳**
CD	**-۱۲/۲۰ ±۳/۸۶**	**۰/۰۰۲۶**	**-۱۲/۸۶ ±۳/۳۰**	**۰/۰۰۰۳**	۰/۰۳۴۵ ±۰/۰۱۹۹	۰/۰۸۹۶
A^2	**-۱۰/۴۶ ±۳/۵۹**	**۰/۰۰۵۲**	**-۱۱/۳۶ ±۳/۰۷**	**۰/۰۰۰۵**	۰/۰۴۴۱ ±۰/۰۱۸۵	۰/۰۲۰۷
B^2	۱/۰۸ ±۳/۵۹	۰/۷۶۴۷	-۰/۹۹۲۰±۳/۰۷	۰/۷۴۷۵	۰/۰۰۵۵ ±۰/۰۱۸۵	۰/۷۶۹۰
C^2	-۵/۷۳ ±۳/۵۹	۰/۱۱۶۳	-۲/۱۳ ±۳/۰۷	۰/۴۸۹۶	-۰/۰۱۵۳ ±۰/۰۱۸۵	۰/۴۱۲۶
D^2	-۵/۳۸ ±۳/۵۹	۰/۱۳۹۳	-۲/۳۹ ±۳/۰۷	۰/۴۳۸۶	-۰/۰۱۴۹ ±۰/۰۱۸۵	۰/۴۲۳۷

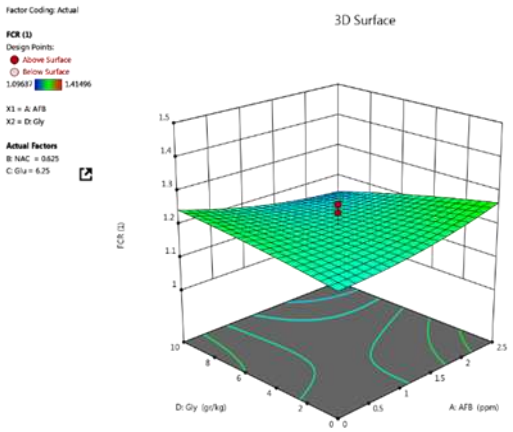
در همین خصوص اثرات متقابل آفلاتوکسین×گلایسین بر ضریب تبدیل خوراک نیز در طول مدت مطالعه اختلافات معنی‌داری را نشان دادند. بصورتی‌که در هفته اول بیشترین مقدار این شاخص در حداکثر مقدار آفلاتوکسین و حداقل مقدار گلایسین مشاهده شد. احتمال می‌رود افزایش میزان سمیت غذایی باعث کاهش مصرف خوراک و کاهش افزایش وزن شده و این باعث افزایش میزان ضریب تبدیل شده است (شکل ۵). این روند در هفته سوم شدت بیشتری داشت و حداکثر مقدار ضریب تبدیل خوراک در حداکثر مقدار آفلاتوکسین و حداقل مقدار گلایسین مشاهده شد (شکل ۶).



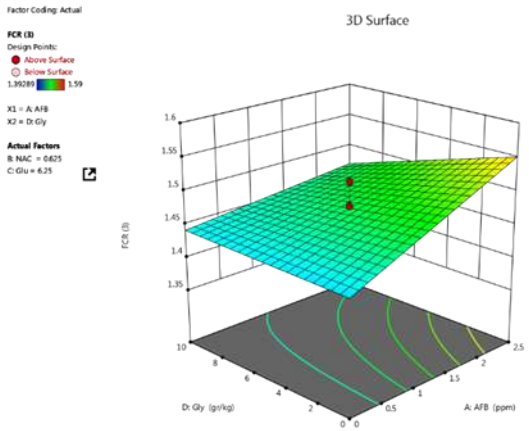
شکل ۳: اثر متقابل آفلاتوکسین×گلوتامیک اسید بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در هفته اول



شکل ۴: اثر متقابل آفلاتوکسین×گلوتامیک اسید بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در پایان دوره



شکل ۵: اثر متقابل آفلاتوکسین×گلایسین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در هفته اول



شکل ۶: اثر متقابل آفلاتوکسین×گلایسین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در هفته سوم

حال با توجه به نتایج روش‌شناسی سطح پاسخ معادلات مدل درجه دو برای هفته‌های اول، دوم و کل به شرح زیر به‌دست آمد:

معادله (۹):

0.0395+(Glu)0.0245+(NAC) 0.0413–1.20 =FCR first week
(Gly×AFB) 0.0430–(Glu×AFB)

معادله (۱۰):

(Gly ×NAC) 0.1194+(AFB) 0.1183+1.45=FCR second week

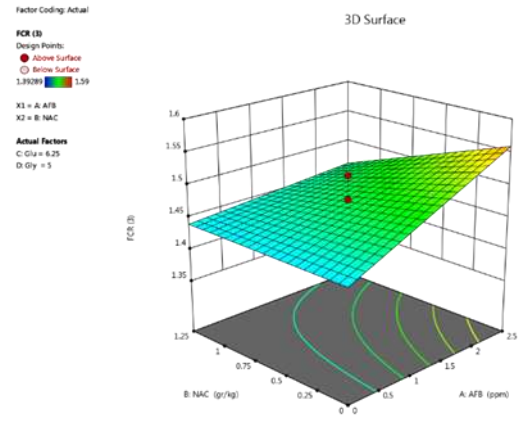
معادله (۱۱):

0.0152–(NAC) 0.0155–(AFB) 0.0423+1.43 =FCR total
0.0289 +(Glu×NAC) 0.0191+(Glu×AFB) 0.0305 =(Gly)
(AFB×AFB) 0.0123 +(Gly×Glu) 0.0240 +(Gly×NAC)

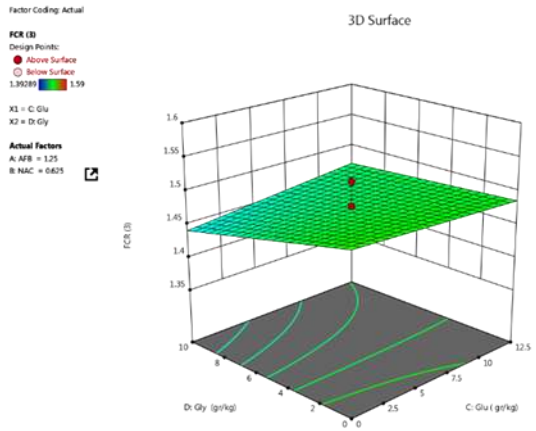
در هفته سوم نتایج تحت تأثیر اثرات متقابل آفلاتوکسین و ان استیل سیستئین نیز قرار گرفت و مشابه گلایسین حداکثر میزان ضریب تبدیل خوراک در حداقل مقدار NAC و حداکثر مقدار آفلاتوکسین مشاهده شد (شکل ۷). در این بین اثرات متقابل گلایسین بر گلوتامیک اسید نیز نشان داد که با افزایش میزان گلوتامیک اسید میزان ضریب تبدیل خوراک روند صعودی نشان داد (شکل ۸).

جدول ۴: ضرایب برآورد شده برای اثرات اصلی و متقابل آفلاتوکسین، ان استیل سیستئین، گلوتامیک اسید و گلاسین بر صفات مورد مطالعه در هفته سوم

parameter	خوراک مصرفی		افزایش وزن بدن		ضریب تبدیل خوراک	
	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value
مدل	**۵۰۸/۰۸ ±۱۲/۷۲**	**۰/۰۰۰۱**	**۳۴۹/۳۱ ±۱۰/۳۶**	**۰/۰۰۰۱**	۱/۴۷ ±۰/۰۳۷۶	۰/۰۹۸
آفلاتوکسین-A	**-۳۷/۱۲ ±۶/۴۶**	**۰/۰۰۰۱**	**-۳۶/۰۸ ±۵/۲۶**	**۰/۰۰۰۱**	۰/۰۳۶۰ ±۰/۰۱۹۱	۰/۰۰۳۵
ان استیل سیستئین-B	**۰/۹۲۹۹ ±۶/۴۶**	۰/۸۸۶۰	۵/۲۰ ±۵/۲۶	۰/۳۲۷۱	-۰/۰۲۳۷ ±۰/۰۱۹۱	۰/۳۱۸۲
گلوتامیک اسید-C	۹/۹۶ ±۴/۱۶	۰/۲۰۱	۴/۸۸ ±۳/۳۹	۰/۱۵۵۲	۰/۰۰۳۹ ±۰/۰۱۲۳	۰/۳۴۸۶
گلایسین-D	**۲/۳۸ ±۶/۴۶**	۰/۷۱۴۱	۱۰/۰۳ ±۵/۲۶	۰/۰۶۱۹	-۰/۰۱۸۶ ±۰/۰۱۹۱	۰/۰۳۶۷
AB	-۱۲/۵۸ ±۸/۴۴	۰/۱۴۱۷	-۰/۹۵۵۶ ±۶/۸۷	۰/۸۸۹۹	-۰/۰۲۴۷ ±۰/۰۲۴۹	۰/۱۵۰۵
AC	-۱۰/۵۲ ±۵/۴۳	۰/۰۵۸۰	-۱۲/۵۱ ±۴/۴۲	۰/۰۰۶۶	۰/۰۰۵۵ ±۰/۰۱۶۱	۰/۰۸۰۴
AD	-۱/۸۷ ±۸/۴۴	۰/۸۲۵۲	۱/۴۱ ±۶/۸۷	۰/۸۳۷۷	-۰/۰۲۱۶ ±۰/۰۲۴۹	۰/۷۲۱۰
BC	**-۱۱/۴۵ ±۵/۴۳**	**۰/۰۳۹۷**	-۴/۳۵ ±۴/۴۲	۰/۳۲۹۶	-۰/۰۰۳۹ ±۰/۰۱۶۱	۰/۲۵۹۳
BD	۱۳/۹۱ ±۸/۴۴	۰/۱۰۵۰	۲/۹۰ ±۶/۸۷	۰/۶۷۴۴	۰/۰۰۴۵ ±۰/۰۲۴۹	۰/۱۶۶۶
CD	**-۱۲/۵۴ ±۵/۴۳**	**۰/۰۲۴۸**	**-۱۱/۸۷ ±۴/۴۲**	**۰/۰۰۹۷**	۰/۰۱۱۱ ±۰/۰۱۶۱	۰/۲۳۵۹
A^2	**-۱۴/۰۳ ±۵/۰۴**	**۰/۰۰۷۴**	**-۱۳/۵۸ ±۴/۱۰**	**۰/۰۰۱۷**		
B^2	-۳/۸۶ ±۵/۰۴	۰/۴۴۶۸	-۲/۷۷ ±۴/۱۰	۰/۵۰۲۷		
C^2	-۹/۳۷ ±۵/۰۴	۰/۰۶۸۴	-۶/۵۷ ±۴/۱۰	۰/۱۱۵۴		
D^2	-۵/۴۵ ±۵/۰۴	۰/۲۸۴۵	-۷/۶۶ ±۴/۱۰	۰/۰۶۷۶		



شکل ۷: اثر متقابل آفلاتوکسین×ان استیل سیستئین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در هفته سوم

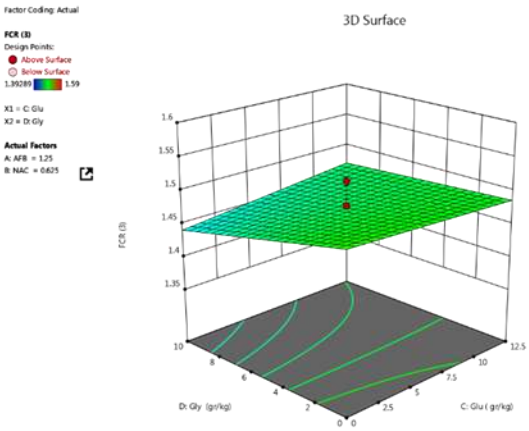


شکل ۸: اثر متقابل گلوتامیک اسید×گلایسین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در هفته سوم

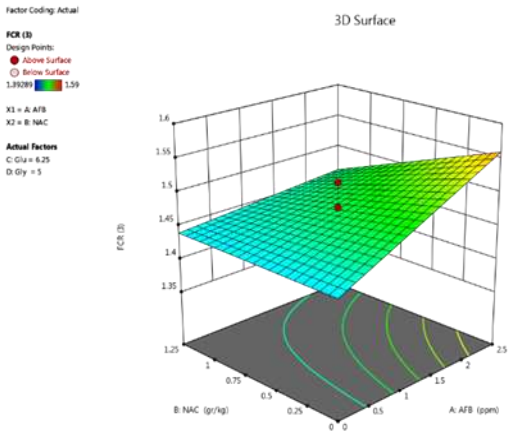
اثرات متقابل NAC و گلوتامیک اسید بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در کل طول دوره در شکل ۹ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که در سطوح کم‌تر از ۵ گرم/کیلوگرم گلوتامیک اسید و سطوح کم‌تر از ۰/۵ گرم/کیلوگرم ان استیل سیستئین حداکثر مقدار ضریب تبدیل خوراک مشاهده شد. مشابهاً همین روند درخصوص اثرات متقابل NAC و گلایسین نیز مشاهده شد و حداکثر مقدار ضریب تبدیل خوراک در سطوح کم‌تر از ۵ گرم/کیلوگرم گلوتامیک اسید و سطوح کم‌تر از ۰/۵ گرم/کیلوگرم ان استیل سیستئین مشاهده شد (شکل ۱۰). درنهایت اثر متقابل اسید گلوتامیک و گلایسین در کل دوره نیز نشان داد که حداقل سطوح هر یک از این مکمل‌های پروتئینی می‌تواند ضریب تبدیل خوراک را افزایش دهد (شکل ۱۱).

جدول ۵: ضرایب برآورد شده اثرات اصلی و متقابل آفلاتوکسین، ان استیل سیستئین، گلوتامیک اسید و گلاسین بر صفات مورد مطالعه در کل دوره مورد مطالعه

parameter	خوراک مصرفی		افزایش وزن بدن		ضریب تبدیل خوراک	
	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value	Estimated parameter ± SE	P-value
مدل	**۶۸۷/۳۵ ±۱۸/۰۲**	**۰/۰۰۰۱**	**۹۶۵/۶۱±۲۰/۳۲**	**۰/۰۰۰۱**	**۱/۴۳ ±۰/۰۱۱۵**	**۰/۰۰۰۱**
آفلاتوکسین-A	**-۵۶/۰۱ ±۹/۱۵**	**۰/۰۰۰۱**	**-۵۹/۴۳ ±۱۰/۳۱**	**۰/۰۰۰۱**	**۰/۰۴۲۳ ±۰/۰۰۵۸**	**۰/۰۰۰۱**
ان استیل سیستئین-B	**۱/۶۵ ±۹/۱۵**	۰/۸۵۷۶	-۶/۹۹ ±۱۰/۳۱	۰/۵۰۰۹	**-۰/۰۱۵۵ ±۰/۰۰۵۸**	**۰/۰۱۰۶**
گلوتامیک اسید-C	۱۰/۶۰ ±۵/۸۹	۰/۰۷۷۵	**۱۵/۱۷ ±۶/۶۴**	**۰/۰۲۶۳**	-۰/۰۰۵۴ ±۰/۰۰۳۸	۰/۱۵۷۷
گلایسین-D	**۸/۸۷ ±۹/۱۵**	۰/۳۳۶۴	۱/۰۱ ±۱۰/۳۱	۰/۹۲۲۳	**-۰/۰۱۵۲ ±۰/۰۰۵۸**	**۰/۰۱۱۸**
AB	-۱۳/۶۶ ±۱۱/۹۵	۰/۲۵۸۳	-۲۵/۲۲ ±۱۳/۴۷	۰/۰۶۶۸	-۰/۰۱۲۲ ±۰/۰۰۷۶	۰/۱۱۴۵
AC	**-۲۳/۸۸ ±۷/۶۹**	**۰/۰۰۳۱**	**-۲۳/۱۶ ±۸/۶۷**	**۰/۰۱۰۰**	**۰/۰۳۰۵ ±۰/۰۰۴۹**	**۰/۰۰۰۱**
AD	-۱۱/۵۳ ±۱۱/۹۵	۰/۳۳۹۰	-۱۶/۵۷ ±۱۳/۴۷	۰/۲۲۴۲	۰/۰۰۲۴ ±۰/۰۰۷۶	۰/۷۵۵۷
BC	-۱۴/۴۸ ±۷/۶۹	۰/۰۶۵۲	**-۱۸/۷۷ ±۸/۶۷**	**۰/۰۳۵۰**	**۰/۰۱۹۱ ±۰/۰۰۴۹**	**۰/۰۰۰۳**
BD	-۰/۸۹۰۲ ±۱۱/۹۵	۰/۹۴۰۹	۱۳/۱۹ ±۱۳/۴۷	۰/۳۳۱۹	**۰/۰۲۸۹ ±۰/۰۰۷۶**	**۰/۰۰۰۴**
CD	**-۲۲/۵۲ ±۷/۶۹**	**۰/۰۰۵۰**	**-۲۵/۳۴ ±۸/۶۷**	**۰/۰۰۵۱**	**۰/۰۲۴۰ ±۰/۰۰۴۹**	**۰/۰۰۰۱**
A^2	**-۲۱/۹۲ ±۷/۱۴**	**۰/۰۰۳۴**	**-۲۴/۴۳ ±۸/۰۵**	**۰/۰۰۳۷**	**۰/۰۱۲۳ ±۰/۰۰۴۶**	**۰/۰۰۹۳**
B^2	**-۴/۳۹ ±۷/۱۴**	۰/۵۴۰۷	-۱/۷۸ ±۸/۰۵	۰/۸۲۶۱	-۰/۰۰۸۱ ±۰/۰۰۴۶	۰/۰۸۰۵
C^2	**-۸/۵۰ ±۷/۱۴**	۰/۲۳۹۱	-۱۴/۷۳ ±۸/۰۵	۰/۰۷۲۸	-۰/۰۰۵۲ ±۰/۰۰۴۶	۰/۲۶۰۴
D^2	**-۹/۱۲ ±۷/۱۴**	۰/۲۰۷۰	-۱۰/۲۲ ±۸/۰۵	۰/۲۰۹۶	-۰/۰۱۰۸ ±۰/۰۰۴۶	۰/۰۲۱۰

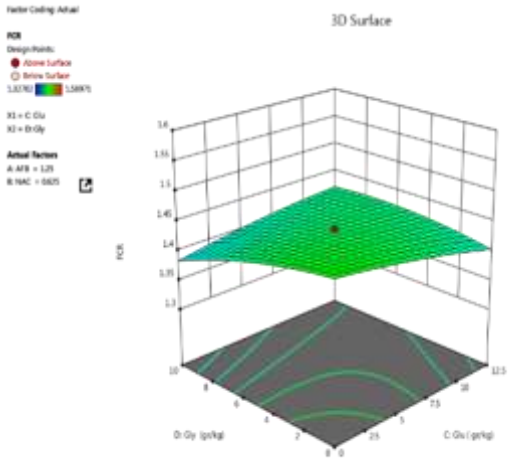


شکل ۱۰: اثر متقابل NAC×گلایسین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در کل دوره



شکل ۹: اثر متقابل NAC×گلوتامیک اسید بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در کل دوره

سطوح بهینه جیره غذایی در هفته‌های مختلف برای صفات عملکرد در جوجه‌های گوشتی در جداول ۶ تا ۸ آمده است. براساس نتایج جدول ۶، سطوح مختلف اسیدهای آمینه در محدوده و حداکثر مقدار آفلاتوکسین برای حداقل کردن خوراک مصرفی به‌جز هفته دوم تفاوتی نداشتند و تفاوت در هفته دوم نیز بسیار جزیی بود. در خصوص میزان مصرف خوراک نیز میانگین حداقل و حداکثر میزان خوراک مصرفی تفاوتی بین حداکثر مقدار آفلاتوکسین و دز مجاز در این پژوهش مشاهده نشد که این خود به عملکرد مناسب اسیدهای آمینه در کنترل میزان سمیت آفلاتوکسین اشاره دارد. همان‌طورکه مشاهده می‌شود در هفته‌های اول میزان کمی از اسیدآمینه جهت خنثی‌سازی اثر سمیت آفلاتوکسین نیاز است اما به مرور زمان با افزایش طول دوره مطالعه حداکثر مقادیر اسیدامینه جهت بهبود جیره غذایی نیاز می‌باشد.



شکل ۱۱: اثر متقابل گلوتامیک اسید×گلایسین بر روی شاخص ضریب تبدیل خوراک در کل دوره

نتایج جدول ۷، نشان‌دهنده دو نوع جیره غذایی در شرایط بدون آفلاتوکسین و حداکثر مقدار آن می‌باشد و اثر آن را بر افزایش وزن جوجه گوشتی نشان می‌دهد. میانگین افزایش وزن بدن در تمام هفته‌ها و طول دوره مطالعه در شرایط حداکثر مقدار آفلاتوکسین نسبت به شرایطی که آفلاتوکسین وجود نداشت کم‌تر بود. براساس این جدول، اسیدآمینه گلایسین در کل دوره مطالعه اثر بیش‌تری را نسبت به سایر اسیدهای آمینه داشت به‌طوری‌که در پایان دوره در شرایط عدم حضور سایر اسیدآمینه‌ها می‌توان از گلایسین در حداکثر دوز خود جهت کنترل سمیت آفلاتوکسین استفاده نمود. نتایج جدول ۸ نیز جیره‌های بهینه غذایی را در خصوص صفت ضریب تبدیل خوراک نشان می‌دهد. همان‌طورکه پیش‌تر اشاره شد در حداکثر مقدار آفلاتوکسین بیش‌ترین ضریب تبدیل غذایی به‌دلیل مکانسیم منفی آن مشاهده شد. در این بین حداکثر مقادیر گلوتامیک اسید و ان استیل سیستئین جهت کنترل میزان سمیت آفلاتوکسین در کل دوره پژوهشی نیاز می‌باشد.

جدول ۶: سطوح بهینه جیره غذایی در هفته‌های مختلف آزمایش برای حداقل کردن صفت خوراک مصرفی در جوجه‌های گوشتی آلوده به حداکثر آفلاتوکسین

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	کل دوره
AFB $_{ppm}$	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
NAC $_{gr}$	۰/۶۱۳	۰/۸۶۷	۱/۲۵	۱/۲۴۹
GLU $_{gr}$	۰/۰۰۰	۱۲/۳۹۶	۰/۰۰۰	۱۲/۵
GLY $_{gr}$	۶/۷۸۰	۹/۹۲۶	۰/۰۰۰	۱۰
خوراک مصرفی $_{gr}$	۱۲۷/۸۹۳	۲۳۹/۴۴۹	۴۱۱/۶۴۷	۵۲۱/۶۶۳
Desirability	۰/۹۲۲	۱/۰۰	۰/۹۰۴	۰/۹۷۵

جدول ۷: سطوح بهینه جیره غذایی در هفته‌های مختلف آزمایش برای حداکثر کردن صفت افزایش وزن بدن در جوجه‌های گوشتی آلوده به حداکثر آفلاتوکسین

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	کل دوره
AFB $_{ppm}$	۲/۵	۲/۳۷۹	۲/۳۸۶	۲/۴۷۲
NAC $_{gr}$	۱/۲۴۷	۰/۰۰۰	۱/۲۵	۰/۰۰۰
GLU $_{gr}$	۱۲/۴۹۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱۲/۵
GLY $_{gr}$	۱۰	۱۰	۱۰	۰/۰۰۰
افزایش وزن بدن $_{gr}$	۱۲۰/۵۹۰	۲۱۰/۹۱۶	۳۲۹/۵۹۰	۹۵۴/۰۸۰
Desirability	۰/۹۲۱	۰/۷۳۵	۰/۷۱۱	۰/۷۴۹

جدول ۸: سطوح بهینه جیره غذایی در هفته‌های مختلف آزمایش برای حداقل کردن صفت ضریب تبدیل خوراک در جوجه‌های گوشتی آلوده به حداکثر آفلاتوکسین

	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	کل دوره
AFB $_{ppm}$	۲/۵	۲/۵	۲/۵	۲/۵
NAC $_{gr}$	۱/۲۴۹	۱/۲۵	۱/۲۴۹	۱/۲۵
GLU $_{gr}$	۳/۱۴۵	۱۲/۵	۰/۰۰۰	۰/۰۰۱
GLY $_{gr}$	۹/۵۸۶	۰/۰۰۰	۱۰	۱۰
ضریب تبدیل خوراک	۱/۰۹۶	۱/۴۴۳	۱/۴۱۰	۱/۳۸۴
Desirability	۱/۰۰	۰/۸۹۱	۰/۹۵۵	۰/۸۸۴

بحث

آفلاتوکسین B_1 موجب تولید مقادیر زیادی اکسیژن فعال آزاد می‌شود که صدمات اکسیداتیو را ایجاد می‌کند (۳۷) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی رادر حیوانات کاهش می‌دهد(۳۸). حساسیت به آفلاتوکسین در حیوانات مختلف براساس گونه، مقدار مصرف، جنس، سن و وضعیت تغذیه‌ای متفاوت است و به‌طورکلی پرندگان جوان‌تر نسبت به آفلاتوکسین‌ها حساس‌تر هستند (۳۹). کاهش مصرف خوراک، سرعت رشد کم و عملکرد ضعیف از نشانه‌های رایج آفلاتوکسیکوزیس در طیور درنتیجه مسمومیت کبدی می‌باشد (۴۰، ۳۸) که در پژوهش حاضر نیز اثرات منفی آفلاتوکسن از هفته اول نمایان شد. روش‌های متنوع فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای از بین بردن آفلاتوکسین‌ها وجود دارد (۵) که استفاده از جیره‌های آنتی‌اکسیدانی یکی از روش‌های مهار آفلاتوکسین‌ها می‌باشد (۶). مطالعات نشان داده است که کاهش مصرف خوراک موجب افزایش ضریب تبدیل خوراک در طیور می‌شود (۴۱). نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که با افزایش میزان آفلاتوکسین ضریب تبدیل خوراک در پایان دوره افزایش یافت (شکل‌های ۶ تا ۸). نتایج مطالعات گذشته نشان داده است که افزودن ۲۶ درصد پروتئین خام به زنجیره غذایی می‌تواند باعث کاهش اثرات سمی آفلاتوکسین B_1 و هم‌چنین بهبود قابلیت‌هضم موادغذایی و درنتیجه افزایش خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان شود (۴۲). نتیجه مطالعه حاضر نیز مثبت‌بودن اثرات اسیدهای‌آمینه در کاهش اثرات سمی آفلاتوکسین را نشان داد (شکل‌های ۱ و ۲). احتمال می‌رود اثرات آفلاتوکسین‌ها روی صفات مصرف خوراک و افزایش وزن بدن نتیجه بی‌اشتهایی و جلوگیری از سنتز پروتئین‌ها و چربی‌ها باشد (۴۳). در این خصوص تحقیقات پیشین نشان داده است که به‌ازای افزایش هر میلی‌گرم سم آفلاتوکسین، عملکرد رشد به‌میزان ۵ درصد کاهش داشته است (۱۹، ۴۴). از سوی دیگر، میزان اثرگذاری آفلاتوکسین تابع میزان سطح آفلاتوکسین و طول مدت تغذیه طیور با مواد غذایی آلوده است (۴۵) به‌طوری‌که با افزایش طول مدت مطالعه و افزایش دز آفلاتوکسین شاخص‌های رشدی کاهش چشمگیری داشت. در نهایت، نتایج روش‌شناسی سطح پاسخ و طرح‌مرکب‌مرکزی به‌خوبی توانستند روند تغییرات سطوح مختلف اسید آمینه‌ها و اثرات متقابل و تعیین مدل غذایی بهینه محاسبه نمایند. پیش‌تر نیز Ahmadi و Golian، (۳۰)، Fallah و همکاران، (۲۹)، کارایی بالای این روش را در تجزیه و تحلیل این گونه داده‌ها تأکید کرده‌اند. به‌نظر می‌رسد تغذیه سه اسیدآمینه گلایسین، گلوتامیک‌اسید و ان-استیل سیستئین به‌عنوان پیش‌سازهای اصلی گلوتاتیون با فراهم نمودن شرایط مناسب موجب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و در نهایت سلامت حیوان می‌شود. استفاده از این روش سم‌زدایی نسبت به روش‌های قبلی در سطح تجاری آسان‌تر و سالم‌تر خواهد بود. نتایج مطالعه حاضر اثرات منفی آفلاتوکسین بر صفات مصرف خوراک و افزایش وزن بدن را نشان داد که این خود باعث افزایش میزان ضریب تبدیل خوراک شد. هم‌چنین نتایج نشان داد که اضافه کردن اسیدهای آمینه به جیره غذایی باعث تعدیل اثرات منفی آفلاتوکسین B_1 شد. از آن‌جایی‌که آفلاتوکسین B_1 در بدن میزبان منجر به تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود، به‌نظر می‌رسد تغذیه سه اسیدآمینه گلایسین، گلوتامیک اسید و ان-استیل سیستئین به‌عنوان پیش‌سازهای اصلی گلوتاتیون با فراهم نمودن شرایط مناسب موجب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی و درنهایت سلامت حیوان می‌شود. دراین‌بین استفاده‌از روش‌شناسی سطح پاسخ با فراهم آوردن اطلاعات آماری و گرافیکی مناسب از توانایی بالایی در جهت تشخیص مدل برتر و تشخیص الگوی بهینه غذایی برخوردار است. با توجه به اهمیت موضوع مورد مطالعه پیشنهاد می‌شود این آزمایش بر روی سایر گونه‌های طیور و در مقادیر و شرایط مختلف آزمایشی بررسی شود.

منابع

1. **Wu, K., Jia, S., Zhang, J., Zhang, C., Wang, S., Rajput, S.A., Sun, L. and Qi, D., 2021.** Transcriptomics and flow cytometry reveals the cytotoxicity of aflatoxin B_1 and aflatoxin M_1 in bovine mammary epithelial cells. Ecotoxicology and Environmental Safety. 209: 111823.
2. **Sabran, M.R., Jamaluddin, R. and Ahmad, Z., 2013.** A mini review on aflatoxin exposure in Malaysia: past, present and future. Frontiers in Microbiology. 4: 334.
3. **International Agency for Research on Cancer. 2002.** Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene, World Health Organization. 82: 1-556.
4. **Strosnider, H., Azziz-Baumgartner, E., Banziger, M., Bhat, R.V., Breiman, R., Brune, M.N., Decock, K., Dilley, A., Groopman, J. and Hell, K., 2006.** Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. Environmental Health Perspectives. 114: 1898-1903.
5. **Kabak, B., Dobson, A.D. and Var, I.L., 2006.** Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 46: 593-619.
6. **Naiel, M.A., Ismael, N.E. and Shehata, S.A., 2019.** Ameliorative effect of diets supplemented with rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on aflatoxin B_1 toxicity in terms of the performance, liver histopathology, immunity and antioxidant activity of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture. 511: 734264.
7. **Blachier, F., Boutry, C., Bos, C. and Tome, D., 2009.** Metabolism and functions of L-glutamate in the epithelial cells of the small and large intestines. The American Journal of Clinical Nutrition. 90(3): 814-821.
8. **Razak, M.A., Begum, P.S., Viswanath, B. and Rajagopal, S., 2017.** Multifarious beneficial effect of nonessential amino acid, glycine: a review. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. doi: 10.1155/2017/1716701.

9. **Populin, T., Moret, S., Truant, S. and Conte, L.S., 2007.** A survey on the presence of free glutamic acid in foodstuffs, with and without added monosodium glutamate. Food Chemistry. 104: 1712-1717.

10. **Cairns, B.E., Dong, X., Mann, M.K., Svensson, P., Sessle, B.J., Arendt-Nielsen, L. and Mcerlane, K.M., 2007.** Systemic administration of monosodium glutamate elevates intramuscular glutamate levels and sensitizes rat masseter muscle afferent fibers. Pain. 132: 33-41.

11. **Wu, G., 1998.** Intestinal mucosal amino acid catabolism. The Journal of Nutrition. 128: 1249-1252.

12. **Reeds, P.J., Burrin, D.G., Stoll, B., Jahoor, F., Wykes, L., Henry, J. and Frazer, M.E., 1997.** Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism. 273: E408-E415.

13. **Olubodun, J.O., Zulkifli, I., Farjam, A.S., Hair-Bejo, M. and Kasim, A., 2015.** Glutamine and glutamic acid supplementation enhance performance of broiler chickens under the hot and humid tropical condition. Italian Journal of Animal Science. 14: 25-29.

14. **Wu, G., Wu, Z., Dai, Z., Yang, Y., Wang, W., Liu, C., Wang, B., Wang, J. and Yin, Y., 2013.** Dietary requirements of "nutritionally non-essential amino acids" by animals and Humans. Amino Acids. 44: 1107-1113.

15. **Wu, G., 2009.** Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Amino Acids. 37: 1-17.

16. **Wu, G., 2010.** Functional amino acids in growth, reproduction, and health. Advances in Nutrition. 1: 31-37.

17. **Wu, G., 2010.** Recent advances in swine amino acid nutrition. Journal of Animal Science and Biotechnology. 1: 118-130.

18. **Lewis, R.M., Godfrey, K.M., Jackson, A.A., Cameron, I.T. and Hanson, M.A., 2005.** Low serine hydroxy methyltransferase activity in the human placenta has important implications for fetal glycine supply. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 90: 1594-1598.

19. **De Koning, T.J., Snell, K., Duran, M., Berger, R. and Surtees, R., 2003.** L-serine in disease and development. Biochemical Journal. 371: 653-661.

20. **Matilla, B., Mauriz, J., Culebras, J., Gonzalez-Gallego, J. and González, P., 2002.** Glycine: a cell-protecting anti-oxidant nutrient. Nutricion hospitalaria. 17: 2-9.

21. **Namroud, N., Shivazad, M. and Zaghari, M., 2008.** Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta characteristics of broiler chicks. Poultry Science. 87: 2250-2258.

22. **Kwon, Y., 2021.** Possible beneficial effects of N-acetylcysteine for treatment of triple-negative breast cancer. Antioxidants. 10(2): 169-180.

23. **Moldeus, P., Cotgreave, I.A. and Berggren, M., 1986.** Lung protection by a thiol-containing antioxidant: N-acetylcysteine. Respiration. 50: 31-42.

24. **Attia, K.M., Asser, M.H., Tawfeek, F.A. and Basuney, H.A., 2019.** Efficacy of N-acetylcysteine and hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the effects of aflatoxin B_1 intoxication in broiler chickens. Alexandria Journal for Veterinary Sciences. 61(2): 18-31.

25. **Reddy, R.V., Taylor, M.J. and Sharma, R.P., 1987.** Studies of immune function of CD-1 mice exposed to aflatoxin B_1. Toxicology. 3(2): 123-132.

26. **Oguz, H.; Hadimli, H.; Kurtoglu, V. and Erganis, O., 2003.** Evaluation of humoral immunity of broilers during chronic aflatoxin (50 and 100 ppb) and clinoptilolite exposure. Revue de Medecine Veterinaire. 154: 483-486.

27. **Chen, X., Naehrer, K. and Applegate, T.J. 2016.** Interactive effects of dietary protein concentration and aflatoxin B_1 on performance, nutrient digestibility, and gut health in broiler chicks. Poultry Science. 95(6): 1312-1325.

28. **Bas, D. and Boyaci, I.H., 2007.** Modeling and optimization I: usability of response surface methodology. Journal of Food Engineering. 78: 836-845.

29. **Fallah, H., Karimi, A., Sadeghi, A. and Behroozi-Khazaei, N., 2020.** Modelling and optimizing of calcium and non-phytate phosphorus requirements of male broiler chickens from 1 to 21 days of age using response surface methodology. Animal. 14(8): 1598-1609.

30. **Ahmadi, H. and Golian, A., 2011.** Response surface and neural network models for performance of broiler chicks fed diets varying in digestible protein and critical amino acids from 11 to 17 days of age. Poultry Science. 90: 2085-2096.

31. **Ahn, H., 2015.** Central composite design for the experiments with replicate runs at factorial and axial points. In Industrial engineering, management science and applications (ed. Gen, M., Kim, K., Huang, X. and Hiroshi, Y.,), Springer, Berlin, Germany. 969-979.

32. **Ghazaghi, M., Mehri, M., Yousef-Elahi, M. and Rokouei, M., 2012.** Response surface of dietary energy and protein in Japanese quail from 7 to 14 days of age. Poultry Science. 91: 2958-2962.

33. **Mehri, M., Davarpanah, A. and Mirzaei, H., 2012.** Estimation of ideal ratios of methionine and threonine to lysine in starting broiler chicks using response surface methodology. Poultry Science. 91: 771-777.

34. **Moradi, M., Fazlzadehdavil, M., Pirsaheb, M., Mansouri, Y., Khosravi, T. and Sharafi, K., 2016.** Response surface methodology (RSM) and its application for optimization of ammonium ions removal from aqueous solutions by pumice as a natural and low-cost adsorbent. Archives of Environmental Protection. 42(2): 33-43.

35. **Montgomery, D.C., 2010.** Design and analysis of experiments, with design expert. Wiley Publication.

36. **Wei, D.L. and Jong, S.C., 1986.** Production of aflatoxins by strains of the *Aspergillus flavus* group maintained in ATCC. Mycopathologia. 93(1): 19-24.

37. **Marin, D.E. and Taranu, I., 2012.** Overview on aflatoxins and oxidative stress. Toxin Reviews. 31(3-4): 32-43.

38. **Zhang, N.Y., Qi, M., Zhao, L., Zhu, M.K., Guo, J., Liu, J., Gu, C.Q., Rajput, S.A., Krumm, C.S., Qi, D.S. and Sun, L.H., 2016.** Curcumin prevents aflatoxin B_1 hepatoxicity by inhibition of cytochrome P450 isozymes in chick liver. Toxins. 8(11): 327.

39. **Rauber, R.H., Dilkin, P., Giacomini, L.Z., de Almeida, C.A. and Mallmann, C.A., 2007.** Performance of turkey poults fed different doses of aflatoxins in the diet. Poultry Science. 86(8): 1620-1624.

40. **Saif, Y.M., Barnes, H., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R. and Swayne, D.E., 2008.** Diseases of poultry. Ames, Iowa: Blackwell Pub Professional. 452-514.

41. **Manaf, M. and Khosravinia, H., 2013.** Effects of aflatoxin on the performance of broiler breeders and Its alleviation through herbal mycotoxin binder. Journal of Agricultural Science and Technology. 15: 55-63

42. **Chen, J., Chen, K., Yuan, S., Peng, X., Fang, J., Wang, F., Cui, H., Chen, Z., Yuan, J. and Geng, Y., 2016.** Effects of aflatoxin B_1 on oxidative stress markers and apoptosis of spleens in broilers. Toxicology and Industrial Health. 32: 278-284.

43. **Bravo, R., Matito, S., Cubero, J., Paredes, S.D., Franco, L., Rivero, M., Rodríguez, A.B. and Barriga, C., 2013.** Tryptophan-enriched cereal intake improves nocturnal sleep, melatonin, serotonin, and total antioxidant capacity levels and mood in elderly humans. Age. 35(4): 1277-1285.

44. **Manafi, M., Narayanaswamy, H.D. and Pirany, N., 2009.** In vitro binding ability of mycotoxin binder in commercial broiler feed. African Journal of Agricultural Research. 4(2).141-143.

45. **Hedayati, M., Manafi, M., Yari, M. and Mousavipour, S.V., 2014.** Commercial broilers exposed to aflatoxin B_1: Efficacy of a commercial mycotoxin binder on internal organ weights, biochemical traits and mortality. International Journal of Agriculture and Forestry. 4(5): 351-358.