

## کارآیی اسیدی فایر اپتوسید بر جمعیت باکتریایی بیماری‌زا، عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، متابولیت‌های خون و بافت شناسی روده جوجه‌های گوشتی

• حیدر زرقی<sup>۱\*</sup>، زهرا موسوی<sup>۲</sup>، مسعود محمدی<sup>۳</sup>، میترا ریاسی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- دانش آموخته کارشناس ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: اسفند ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۱

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۱۲۳۲۷۶۱

Email: h.zarghi@um.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2022.357874.2211

### چکیده

این مطالعه به منظور بررسی کارآیی اسیدی فایر اپتوسید بر جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا، عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، غلظت کلسیم و فسفر خون و هیستومورفومتری ژژنوم جوجه‌های گوشتی انجام شد. در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) حداقل غلظت بازدارندگی (M.I.C) و حداقل غلظت کشندگی (M.B.C) اپتوسید علیه باکتری‌های سالمونلا، اشرشیاکلاهی و کلستریدیوم پرفرجنس ارزیابی شد. آزمایش روی حیوان زنده (*in vivo*) با استفاده از ۱۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه راس ۳۰۸ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۲ تیمار شامل تغذیه با جیره شاهد (بدون اپتوسید) و تغذیه با جیره حاوی ۰/۱ درصد اپتوسید، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد. نتایج M.I.C و M.B.C نشان داد، اپتوسید علیه باکتری‌های سالمونلا، اشرشیاکلاهی و کلستریدیوم پرفرجنس موثر است. افزودن اپتوسید به جیره جوجه‌های گوشتی باعث کاهش معنی‌دار وزن ۱۰ روزگی و مصرف خوراک روزانه در دوره آغازین (۱۰-۲ روزگی) شد. اثر افزودن اپتوسید به جیره بر شاخص‌های عملکردی در دوره رشد (۲۳-۱۱ روزگی) معنی‌دار نبود. در دوره پایانی (۴۲-۲۴ روزگی) و کل دوره آزمایش (۴۲-۲ روزگی) افزودن اپتوسید به جیره باعث بهبود میانگین وزن بدن، رشد روزانه، ضریب تبدیل خوراک، شاخص راندمان تولید اروپایی و عملکرد اقتصادی شد. قابلیت هضم پروتئین و ارتفاع ویلی‌های روده با افزودن اپتوسید به جیره افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد، افزودن اسیدی فایر اپتوسید در سطح ۰/۱ درصد به جیره باعث بهبود عملکرد رشد، نمو و سلامت دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسیدی فایر، هیستومورفومتری، جوجه‌های گوشتی.

Animal Science Journal (Pajouhesh &amp; Sazandegi) No 139 pp: 105-122

**Efficiency of OptoCid acidifier on pathogenic bacterial population, growth performance, nutrient digestibility, blood metabolites, and intestinal histology in broiler chickens**By: Heydar Zarghi<sup>\*1</sup>, Zahra Mousavi<sup>2</sup>, Masoud Mohammadi<sup>3</sup>, Mitra Riassi<sup>4</sup>

1: Associate Professor, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2: PhD student, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

3: MSc graduate, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

4: PhD student, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

**Received: March 2022****Accepted: November 2022**

This study was conducted to investigate the efficiency of OptoCid acidifier on pathogenic bacterial population, growth performance, nutrient digestibility, blood calcium and phosphorus concentration, and jejunum histomorphometry in broiler chickens. The minimum inhibitory concentration (M.I.C) and minimum lethal concentration (M.B.C) of OptoCid were evaluated *in vitro* against *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* bacteria. A totally of 100 one-day-old male Ross-308 broiler chicks (*in vivo* experiment) was conducted in a completely randomized design with two treatments, feeding a control diet (no OptoCid) and feeding a diet containing 0.1% OptoCid, five replicates and 10 birds each replicate. The results of M.I.C and M.B.C showed that OptoCid is effective against *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* bacteria. Addition of OptoCid to broiler diet caused a significant decrease in 10-day weight and daily feed intake in the starter period (2-10 days). The effect of adding OptoCid to the diet on performance traits during the grower period (11-23 days) was not significant. In the finisher (24-42 days) and the whole (2-42 days) periods, by adding OptoCid to diet improved the the average body weight, daily gain, feed conversion ratio, European production efficiency factor and economic performance. Adding OptoCid to the diet increased protein digestibility and the height of intestinal villi. The results of this study showed that the addition of the OptoCid acidifier at 0.1% to the diet improves the growth performance, development and health of the digestive system of broiler chickens.

**Key words:** Acidifier, histomorphometry, broiler chickens**مقدمه**

نسبت به باکتری‌های بیماری‌زایی نظیر اشرشیاکلاسی، سالمونلا و کلستریدیوم شده است (Murry و همکاران، ۲۰۰۴). از این رو به منظور بهبود اکوسیستم روده و کاهش باکتری‌های مضر دستگاه گوارش افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها به جیره پیشنهاد می‌شود. با افزایش آگاهی در مورد اثرات نامطلوب آنتی‌بیوتیک‌ها بر سلامت انسان استفاده از آن‌ها از سال ۲۰۰۶ با محدودیت مواجه شد (Seidavi و همکاران، ۲۰۲۱). گزارش شده است که تا سال ۲۰۵۰؛ تعداد مرگ و میر ناشی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک به ۱۰ میلیون نفر

خوراک یکی از اجزاء اصلی در پرورش طیور بوده و تاثیر بسزایی بر عملکرد تولیدی و اقتصادی می‌گذارد. دستگاه گوارش پرنده به عنوان یک ارگان پیچیده و پویا، نقش محوری در سلامت و بهبود عملکرد حیوان دارد. عوامل زیادی باعث برهم خوردن تعادل اکوسیستم دستگاه گوارش و در نتیجه سلامت حیوان شده که از جمله آن‌ها می‌توان به آلودگی‌های میکروبی خوراک طیور اشاره کرد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸). از سویی دیگر پرورش متراکم طیور در مراکز پرورشی منجر به افزایش حساسیت آن‌ها

از جمله نقش‌های دیگر اسیدهای آلی که بسیار مورد توجه است؛ افزایش فعال‌سازی آنزیم‌های زیموژن در دستگاه گوارش با کاهش pH معده است که نقش مهمی را در افزایش قابلیت هضم پروتئین‌ها دارد (Kirchessner, 1991). کاهش pH دستگاه گوارش حلالیت مواد معدنی به خصوص کلسیم را افزایش داده، بدین طریق باعث افزایش جذب مواد معدنی و بهبود بافت استخوانی می‌شود. Al-Kassi و Mohssen (2009) گزارش کردند، افزودن ۲ گرم بر کیلوگرم اسید پروپیونیک به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به بهبود قابل توجهی در افزایش وزن بدن، مصرف خوراک و راندمان خوراک شد. Paul و همکاران (2007) گزارش کردند، تغذیه جوجه‌های گوشتی با جیره حاوی ۳ گرم بر کیلوگرم پروپیونات کلسیم باعث بهبود بازده خوراک به میزان ۶/۵ درصد در مقایسه با گروه شاهد شد. همچنین گزارش شده است، استفاده از مخلوط اسیدهای آلی در مقایسه با یک اسید آلی منفرد، طیف وسیع‌تری از اثرات مفید را دارد (Dai و همکاران، 2021؛ Iqbal و همکاران، 2021).

گیاهان و ادویه‌جات از دوران باستان نه تنها به عنوان مواد آنتی‌اکسیدان و طعم دهنده، بلکه به‌عنوان ترکیبات دارای خواص ضد میکروبی و محرک رشد مورد استفاده واقع شده است (Nabavi و همکاران، 2014؛ Nabavi و همکاران، 2013). مطالعات انجام شده طی دو دهه گذشته، ثابت کرده است گیاهان منابع غنی از متابولیت‌های مختلف ضد میکروبی هستند که به‌عنوان سیستم دفاعی برای محافظت از گیاه در برابر فشارهای بیوتیک (زنده) و غیر بیوتیک عمل می‌کنند (Nabavi و همکاران، 2015). گیاهان دارویی حاوی مواد موثر بوده و نقش بسزایی در فعالیت ضد میکروبی ایفا می‌کنند (Ranasinghe و همکاران، 2012). اسانس گیاه دارچین به دلیل وجود ترکیبی بنام سینامالدهید با خواص ضد باکتریایی بالا مورد توجه قرار گرفته است؛ این ترکیب قسمت اعظم اسانس دارچین را شامل می‌شود (۶۰-۶۵ درصد). Hunter و همکاران (2017) گزارش کردند، افزودن پودر دارچین به خوراک جوجه‌های گوشتی توانست موجب افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن پرندگان از طریق خاصیت

می‌رسد که این میزان بیش‌تر از تمام مرگ و میرهایی است که توسط سرطان در هر سال اتفاق می‌افتد (Wang و همکاران، 2016). بعلاوه محدودیت در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند اثرات نامطلوبی از قبیل وقوع برخی از بیماری‌های گوارشی نظیر آنتریت نکروتیک تحت بالینی و نامطلوب شدن عملکرد رشد را به همراه داشته باشد (Buttin و Dibner، 2002). بنابراین، توجه ویژه‌ای به استفاده از مواد ایمن با توانایی جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد در جیره طیور شده است.

اسیدهای آلی در واقع اسیدهای ضعیفی هستند که در صورت مصرف در محیط دستگاه گوارش قادر هستند از دیواره سلولی باکتری به داخل آن نفوذ کنند. مولکول اسید آلی پس از ورود به سلول باکتری، تجزیه شده و موجب کاهش pH داخل سلولی باکتری و در نتیجه مرگ آن می‌شود و به این طریق نقش ضد باکتریایی خواهد داشت (Bolton و Dawar، 1965). اسیدهای آلی بر اساس طول زنجیر کربنی و PKa ای که دارند از خواص مختلفی برخوردار هستند (Kirchessner و همکاران، 1991). بیشترین خواص ضد میکروبی مربوط به اسیدهای آلی کوتاه زنجیر نظیر اسید فرمیک، اسید پروپیونیک و اسید استیک می‌باشد که قادر هستند به راحتی وارد سلول باکتری شده و سبب دنا توره شدن آن شوند. اسیدی کردن قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش مکانسیم دیگری از اثر بخشی اسیدهای آلی است، به طوری که توانایی رشد و تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا (که اکثراً در pH های بازی فعال هستند) کاهش می‌یابد، بنابراین افزودن اسیدهای آلی به جیره می‌تواند نقش موثری در کاهش اشاعه باکتری‌های بیماری‌زا و عفونت‌ها ایفا کنند (Mroz و همکاران، 2006). کاهش باکتری‌های بیماری‌زا، افزایش جمعیت باکتری‌های مفید و بهره‌وری آنیون‌های حاصل از تجزیه اسیدهای آلی نقش مهمی در نمو لایه مخاطی روده و افزایش سطح جذب می‌گذارد (Mroz، 2006 و Allahdo و همکاران، 2018). Hernandez (2006) گزارش کرد، افزودن از اسید فرمیک در سطح ۰/۵ و ۱ درصد به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش ارتفاع پرزهای روده نسبت به گروه شاهد شد.

چاهک‌های فاقد کدورت باکتری‌های مورد مطالعه روی محیط مولر هیتون آگار به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند (Javadmanesh و همکاران، ۲۰۲۱). برای بررسی مقاومت حرارتی اپتوسید از روش انتشار از دیسک سوسپانسیون میکروبی باکتری اشرشیاکلای با OD برابر با نیم مک فارلند استفاده شد (Javadmanesh و همکاران، ۲۰۲۱). به این منظور اپتوسید در مدت زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه تحت دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس به چاهک‌های ایجاد شده بر روی محیط کشت ریخته شد. از اپتوسید بدون اعمال حرارت بعنوان گروه شاهد مثبت و حلال محصول بعنوان شاهد منفی استفاده شد.

### بخش فارمی (*in vivo*)

#### پرنده‌گان، جایگاه، شرایط پرورش و تیمارهای آزمایشی

آزمایش با استفاده از تعداد ۱۰۰ قطعه جوجه خروس گوشتی یک روزه سویه راس ۳۰۸ انجام شد. جوجه‌ها در سن ۲ روزگی بین ۱۰ پن (در هر پن ۱۰ قطعه پرنده) با میانگین وزن گروهی مشابه (۲۴±۶۴۲ گرم) تقسیم شدند. دمای جایگاه پرورش در روز ورود جوجه‌ها ۳۵- درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد، پس از ۷۲ ساعت روزانه ۰/۵ درجه سانتی‌گراد دمای سالن کاهش یافت تا دمای سالن به ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد برسد و سپس تا پایان دوره پرورش دمای سالن ثابت نگه‌داشته شد. رطوبت نسبی در هفته اول پرورش ۷۰-۶۰ درصد و پس از آن تا پایان دوره پرورش در دامنه ۶۰-۵۰ درصد حفظ شد. برنامه نوردهی سالن شامل ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی در کل دوره آزمایش اعمال شد. جیره‌های مورد استفاده در این آزمایش بر پایه ذرت و کنجاله سویا با استفاده از نرم افزار UFFDA (۱۹۹۲) بر اساس حداقل احتیاجات توصیه شده راهنمای راس ۳۰۸ (جدول ۱) تنظیم شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو تیمار شامل تغذیه با جیره شاهد (بدون اپتوسید) و تغذیه با جیره حاوی ۰/۱ درصد اپتوسید، ۵ تکرار و ۱۰ قطعه پرنده در هر تکرار انجام شد. پرنده‌گان در دوره سنی ۴۲-۲ روزگی با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند.

تحریک کنندگی اشتها و کمک به هضم روده‌ای شود (Hunter و همکاران، ۲۰۱۷). افزودن مخلوط عصاره‌های گیاهی و اسیدهای آلی به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی موجب بهبود عملکرد رشد، راندمان لاشه، نمو مخاط روده و فلور میکروبی روده شده است (Kim و همکاران، ۲۰۰۵). به توجه به مطالب مطرح شده، این مطالعه به منظور بررسی خواص ضدباکتریایی محصول تجاری اسیدی‌فایر اپتوسید (ترکیبی از اسیدهای آلی و سینامالدهید) علیه سه باکتری اشرشیاکلای، سالمونلا انترتیدیس و کلاستریدیوم پرفرنجنس به عنوان رایج‌ترین عوامل میکروبی ایجاد کننده بیماری و همچنین بررسی تاثیر افزودن آن به جیره بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، غلظت کلسیم و فسفر خون، جمعیت میکروبی محتویات و هیستومورفومتری روده جوجه‌های گوشتی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### تهیه مکمل مورد آزمایش

ابتدا اسیدی‌فایر اپتوسید (مخلوطی از اسید فرمیک ۱۴ درصد، اسید پروپیونیک ۶ درصد، فرمات سدیم ۲۵ درصد، پروپیونات کلسیم ۱۵ درصد و سینامالدهید ۳ درصد) از شرکت افزونی‌های خوراک دام و طیور بامداد رسپینا تهیه شد.

#### بخش آزمایشگاهی (*in vitro*)

اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارندگی<sup>۱</sup> (MIC) و حداقل غلظت کشندگی<sup>۲</sup> (MBC) اسیدی‌فایر اپتوسید علیه باکتری‌های سالمونلا، اشرشیاکلای و کلاستریدیوم پرفرنجنس در میکروپلیت ۹۶ خانه استریل با روش براث میکرودايلوشن انجام شد. به منظور تعیین MIC ابتدا سه باکتری مورد نظر در محیط کشت مولر هیتون براث به مدت ۱۶ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد کشت داده شدند و پس از رسیدن به OD مورد نظر میزان ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی معادل  $1 \times 10^8$  cfu/ml به همراه ۹۰ ماکرولیتر از رقت‌های ساخته شده از اپتوسید به هر یک از چاهک‌ها ریخته شد. از محیط کشت مولر هیتون براث به عنوان شاهد منفی استفاده شد و از سوسپانسیون باکتری بعنوان شاهد مثبت استفاده شد. میکروپلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت، جذب نوری توسط دستگاه خوانش گر پلیت الایزا (بایوتک، آمریکا) در طول موج ۶۰۰-۶۳۰ نانومتر خوانده شد. برای تعیین MBC با استفاده از

<sup>1</sup> Minimal inhibitory concentration (MIC)

<sup>2</sup> Minimum bactericidal concentration (MBC)

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و مغذی جیره‌های آزمایشی<sup>۱</sup>

اجزای خوراک	دوره آغازین (۱ تا ۱۰ روزگی)	دوره رشد (۱۱ تا ۲۳ روزگی)	دوره پایانی (۲۴ تا ۴۲ روزگی)
ذرت	۶۰/۰۰	۶۳/۶۵	۶۶/۳۳
کنجاله سویا	۳۳/۶۵	۲۹/۵۸	۲۶/۵۸
روغن سویا	۲/۲۰	۲/۸۳	۳/۵۹
کربنات کلسیم	۰/۸۰	۰/۶۳	۰/۵۸
دی کلسیم فسفات	۱/۷۸	۱/۸۳	۱/۶۲
نمک طعام	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۳۴
پرمیکس معدنی <sup>۲</sup>	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
پرمیکس ویتامینه <sup>۳</sup>	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
دی ال- متیونین	۰/۳۳	۰/۲۸	۰/۲۴
ال- لایزین هیدروکلراید	۰/۲۹	۰/۲۶	۰/۱۸
ال- ترئونین	۰/۰۸	۰/۰۷	۰/۰۴
قیمت جیره فاقد اپتوسید، کیلوگرم/ریال	۸۶۵۰۰	۸۲۰۰۰	۷۹۳۰۰
قیمت جیره حاوی ۰/۱٪ اپتوسید، کیلوگرم/ریال	۸۶۷۲۰	۸۲۲۲۰	۷۹۵۲۰
<b>ترکیب محاسبه شده مواد مغذی</b>			
انرژی قابل متابولیسم، کیلوگرم/کیلوکالری	۳۰۰۰	۳۰۹۲	۳۱۷۰
پروتئین خام، درصد	۲۱/۰۰	۱۹/۷۴	۱۸/۰۰
لیزین، درصد	۱/۳۲	۱/۱۹	۱/۰۵
متیونین، درصد	۰/۶۵	۰/۵۷	۰/۵۲
متیونین + سیستین، درصد	۰/۹۸	۰/۸۸	۰/۸۲
ترئونین، درصد	۰/۸۶	۱/۴	۰/۷۱
کلسیم، درصد	۰/۹۰	۰/۸۴	۰/۷۶
فسفر قابل دسترس، درصد	۰/۴۵	۰/۴۲	۰/۳۸
سدیم، درصد	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۷
پتاسیم، درصد	۱/۰۴	۱/۰۵	۰/۹۸
کلر، درصد	۰/۲۰	۰/۲۱	۰/۲۰

<sup>۱</sup> خوراک پایه برای هر دو تیمار یکسان و فقط در تیمار حاوی اپتوسید به مقدار ۰/۱ درصد از اسیدی فایر اپتوسید استفاده شده است.

<sup>۲</sup> مقدار ویتامین تامین شده از پرمیکس ویتامینه در هر کیلوگرم خوراک: ۹۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A؛ ۵۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3؛ ۳۶ میلی گرم؛ ویتامین E؛ ۲ میلی گرم ویتامین K3؛ ۱/۵۳ میلی گرم تیامین؛ ۶/۶ میلی گرم ریوفلاوین؛ ۲۹/۷ میلی گرم اسید پانتوتنیک؛ ۹/۸ میلی گرم نیاسین؛ ۳/۰ میلی گرم پیریدوکسین؛ ۰/۱ میلی گرم بیوتین؛ ۱ میلی گرم اسید فولیک؛ ۱/۶ میلی گرم سیانو کوبالامین؛ ۲۵۰ میلی گرم کولین کلراید (۶۰٪)، ۱ میلی گرم آنتی اکسیدانت.

<sup>۳</sup> مقدار عناصر تامین شده از پرمیکس مینرال در هر کیلوگرم خوراک: ۸۴/۵ میلی گرم روی (سولفات-روی)، ۱۰۰ میلی گرم منگنز (سولفات-منگنز)، ۱۰ میلی گرم مس (سولفات-مس)، ۵۰ میلی گرم آهن (سولفات آهن)، ۱/۰ میلی گرم ید (یدات کلسیم) و ۰/۲ میلی گرم سلنیوم (سلنیت سدیم) می باشد.

**عملکرد رشد**

شاخص‌های عملکرد رشد شامل میزان مصرف خوراک، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در دوره‌های سنی ۱۰-۲، ۱۱-۲۳، ۲۴-۴۲ و ۴۲-۲ روزگی محاسبه شد. به این منظور جوجه‌های هر پن در سن ۲ روزگی و بعد از آن در سنین ۱۰، ۲۳ و ۴۲ روزگی به صورت گروهی توزین شدند. به منظور حداقل کردن خطای حاصل از وزن محتویات دستگاه گوارش ۴ ساعت قبل از وزن-کشی به جوجه‌ها گرسنگی داده شد. میزان مصرف خوراک هر پن معادل مقدار خوراک عرضه شده در طول هر دوره سنی منهای مقدار خوراک باقی مانده در پایان دوره محاسبه سپس میزان مصرف خوراک هر قطعه با توجه به تعداد جوجه‌های هر پن و تاریخ بروز تلفات به صورت گرم مصرف خوراک به ازای هر قطعه در روز تصحیح شد. ضریب تبدیل خوراک یا مقدار خوراک مورد نیاز برای افزایش واحد وزن زنده از تقسیم خوراک مصرفی بر میزان افزایش وزن محاسبه شد. شاخص تولید (راندمان تولید اروپایی) برای کل دوره آزمایش بر اساس رابطه ۱ محاسبه شد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸).

رابطه ۱:

$$\text{ضریب تبدیل غذایی} \times \text{طول دوره پرورش} = \frac{\text{ماندگاری} (\%) \times \text{وزن زنده (kg)}}{\text{شاخص تولید}} \times 100$$

**عملکرد اقتصادی**

عملکرد اقتصادی با توجه به قیمت خوراک، قیمت اسیدی‌فایر اپتوسید و قیمت مرغ زنده در زمان اجرای طرح محاسبه شد. هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تولید بر مبنای رابطه ۲ (Komijani و Sobhani، ۲۰۰۵)، هزینه خوراک یک قطعه پرنده در طول دوره پرورش از ضرب قیمت خوراک دوره‌های آغازین، رشد و پایانی به ترتیب در میزان مصرف خوراک هر قطعه در طول دوره‌های مذکور، درآمد حاصل از فروش هر قطعه

پرنده از ضرب قیمت مرغ زنده در میانگین وزن زنده هر قطعه و سود ناخالص از کسر هزینه‌های صورت گرفته برای خوراک مصرفی از درآمد فروش محاسبه شد.

رابطه ۲: = هزینه خوراک به ازای واحد وزن تولید

ضریب تبدیل خوراک  $\times$  قیمت واحد وزن جیره

**جمعیت میکروبی و pH محتویات اندام‌های گوارشی**

در انتهای دوره آزمایش (۴۲ روزگی) از هر تکرار یک قطعه پرنده که به میانگین وزن آن تکرار نزدیک بود به صورت تصادفی انتخاب و کشتار شدند. از محتویات ژژنوم روده به منظور اندازه‌گیری جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس، کلی فرم و باکتری‌های گرم منفی به داخل فالكون‌های استریل حاوی یک میلی‌لیتر گلیسرول منتقل و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایشات میکروبی نگهداری شدند. پس از یخ‌گشایی با محلول نمک فسفات با خاصیت بافری رقت سازی انجام گرفت و بر روی محیط کشت‌های اختصاصی تلقیح انجام و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در نهایت کلنی‌ها مورد ارزیابی و شمارش واقع شدند. برای سنجش pH اندام‌های گوارشی شامل چینه دان، ژژنوم و ایلئوم مقدار ۰/۵ گرم از محتویات اندام‌های گوارشی به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر مخلوط و پس از ۳۰ ثانیه هم زدن pH آن با استفاده از دستگاه pH متر<sup>۳</sup> خوانده و ثبت شد (Hinton و Thompson، ۱۹۹۷).

**بافت شناسی روده**

در پرندگان کشتار شده، پس از زدودن آلودگی‌ها از سطح روده یک قطعه‌ی بافتی (حدود ۱/۵ سانتی متر) از قسمت میانی ژژنوم (ناحیه وسط بین مجاری ورودی صفری و زائده مکل) برای مطالعات بافت شناسی نمونه برداری شد. نمونه‌های تهیه شده با محلول سالین ۰/۹ درصد به منظور زدوده شدن محتویات آن شستشو داده شدند و سپس داخل محلول فرمالین ۱۰ درصد به

<sup>3</sup> Metrohm AG CH-9101 Herisau, Switzerland

ویلی از انتهای ویلی تا دهانه کریپت‌ها، عرض ویلی‌ها شامل میانگین عرض در یک سوم و دو سوم ارتفاع ویلی‌ها و عمق کریپت غدد لیبرکوهن از قاعده ویلی‌ها تا ماهیچه مخاطی بودند. همچنین نسب طول ویلی‌ها به عمق کریپت و سطح جذبی ویلی‌ها بر مبنای رابطه ۳ محاسبه شد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸).

رابطه ۳:  $\text{ارتفاع ویلی} \times \text{سطح جذبی ویلی} =$

$3.14 \times \text{عرض ویلی}$

### قابلیت هضم مواد مغذی

در سن ۴۲ روزگی تعداد ۲ قطعه پرنده از هر تکرار برای تعیین قابلیت هضم ظاهری پروتئین و ماده خشک مصرفی انتخاب و برای جمع‌آوری فضولات درون قفس‌های متابولیکی قرار داده شدند. برای تخلیه دستگاه گوارش ۱۲ ساعت گرسنگی در نظر گرفته شد و سپس پرندگان با جیره‌های آزمایشی به مدت ۷۲ ساعت تغذیه شدند و بعد از آن (پس از اعمال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا) سینی‌های جمع‌آوری کود برداشته شد. سپس پر و خوراک از نمونه‌ها جدا و برای نگهداری در فریزر (۲۰-) قرار داده شد. مقدار مصرف خوراک جوجه‌های هر قفس در ۳ روز آزمایش با کسر خوراک باقیمانده از خوراک داده شده تعیین شد. فضولات دفعی به مدت ۷۲ ساعت در آن با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن کل فضولات دفع شده هر قفس تعیین شد. ترکیب شیمیایی نمونه فضولات و جیره‌های آزمایشی (ماده خشک و پروتئین خام) در آزمایشگاه آنالیز مواد خوراکی طبق روش‌های متداول AOAC (۱۹۹۰) تعیین شد.

### غلظت کلسیم و فسفر خون

در سن ۴۲ روزگی یک پرنده از هر تکرار بر اساس میانگین گروه انتخاب و از سیاهرگ بال آن خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خون در لوله‌های آزمایشگاهی حاوی ماده ضد انعقاد هپارین جمع‌آوری و جداسازی پلاسما با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ<sup>۷</sup>

منظور ثابت شدن نمونه‌های بافتی قرار گرفتند و بعد از ۲۴ ساعت محلول ثابت‌کننده تعویض و تا زمان انجام آزمایشات بافت‌شناسی نگهداری شدند.

نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه بافت‌شناسی از محلول فرمالین خارج شدند و با قرار دادن داخل دستگاه فرآوری خودکار فرآیند شستشو از محلول ثابت‌کننده اضافی، آبگیری، شفاف‌سازی و آغستگی روی آن‌ها طی سه مرحله؛ ۱- آب‌گیری با قرار دادن نمونه‌ها در محلول‌های الکل اتیلیک با درجات صعودی ۲- شفاف‌سازی با قرار دادن نمونه‌ها در محلول زایلان (زایلان جایگزین الکل می‌شود) و ۳- پارافینه کردن با قرار دادن نمونه‌ها در داخل پارافین مایع به منظور اشباع‌سازی نمونه با پارافین انجام شد. پس از خارج نمودن نمونه‌ها از دستگاه تهیه بلوک‌های بافتی با استفاده از قالب‌های لوکهارت و پارافین انجام شد. از بلوک‌های پارافینی با استفاده از دستگاه میکروتوم<sup>۴</sup> نیمه اتومات به فاصله ۶۰ میکرومتر دو برش با ضخامت ۶-۷ میکرومتر تهیه شد. برش‌های تهیه شده داخل آب با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد شناور شدند تا پس از صاف شدن چین و چروک‌های احتمالی به راحتی روی لام قرار گیرند. لام‌های حاوی برش روی صفحه گرم قرار گرفتند تا ضمن خشک شدن پارافین اضافی ذوب و خارج شود. رنگ آمیزی بافت‌های پایدار شده روی لام پس از پارافین‌گیری با زایلان و آب دهی با درجات نزولی الکل اتیلیک به کمک روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین<sup>۵</sup> (H&E) انجام شد. قبل از انجام مطالعات میکروسکوپی به منظور مصونیت بیشتر نمونه‌های بافتی تهیه شده بر روی آن‌ها لامل چسبانده شد.

هیستومورفومتری روده با استفاده از میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین<sup>۶</sup> روی حداقل ۹ عدد ویلی سالم برای هر نمونه بافتی انجام شد. شاخص‌های مورد سنجش در مورفومتری روده شامل ارتفاع

<sup>7</sup> Hettich – Zentrifugen – Model EBA 21 – Distributer in Iran Poya Ehrasz Co Tel (98)21 22887535

<sup>4</sup> Model Leica RM 2145

<sup>5</sup> Hematoxylin and Eosin

<sup>6</sup> Model U- TV0.5 XC-2, Olympus corporation, BX41

۳۰۰۰ دور در دقیقه (rpm) به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. نمونه‌های پلاسمای جدا شده تا زمان اندازه‌گیری فراسنجه‌های مورد نظر (فسفر و کلسیم) در داخل فریزر و دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقادیر فسفر معدنی پلازما با استفاده از روش رنگ‌سنجی و برای قرائت مقادیر جذب نوری نمونه‌های مورد نظر از دستگاه اسپکتروفوتومتر<sup>۸</sup> استفاده شد و مقادیر کلسیم پلازما با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر<sup>۹</sup> و با استفاده از کیت تشخیص طبی کلسیم ساخت شرکت پارس آزمون تعیین شد.

### آنالیز آماری داده‌های

نتایج بدست آمده از آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS-9.1 و رویه مدل عمومی خطی GLM مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون T در سطح احتمال ( $P < 0.05$ ) انجام شد.

### نتایج و بحث

#### حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی

##### اِپتوسید

نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی اسیدی‌فایر اِپتوسید روی عوامل میکروبی مورد مطالعه در جدول ۲ گزارش شده است. کمترین مقدار MIC (۴ mg/ml) روی اشرشیاکلاهی و کمترین مقدار MBC (۸ mg/ml) روی باکتری‌های اشرشیاکلاهی و سالمونلا انتریتیدیس مشاهده شد.

<sup>8</sup> Spectrophotometer. Jasco V-570 - Made in Japan

<sup>9</sup> A. Bio systems S. A.- Costa Brava30, 08030 Barcelona, Spain

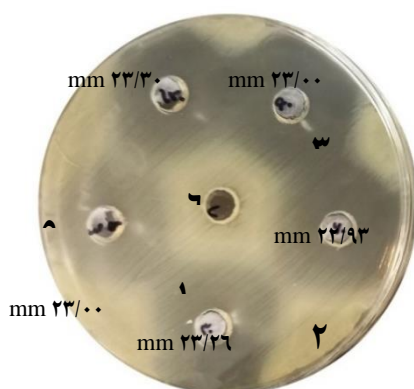


## جدول ۲. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی (mg/ml) باکتریایی اپتوسید

کلوستریدیوم پرفرنجنس		اشرشیاکلای		سالمونلا انترتیدیس	
MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	MIC (mg/ml)
		۸		۸	۸

محصول اپتوسید (اپتوسید + آب مقطر) در هیچ یک از زمان‌ها تاثیر معنی‌داری بر فعالیت محصول نداشت، به طوری که اسیدی‌فایر توانایی باکتری‌سایدی و باکتری‌استاتیک خود را حفظ کرده است.

نتایج قطر هاله عدم رشد باکتری، محدوده‌ای که اسیدفایر توانسته باکتری را بکشد یا مانع رشد آن شود، هر چه قطر بزرگتر باشد طیف کشندگی وسیع‌تر می‌باشد، در واقع اسید بهتر عمل کرده است (شکل ۱). اعمال دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد بر روی



شکل ۱. آزمون انتشار از چاهک به منظور بررسی اثر حرارت ۸۰ درجه سانتی‌گراد بر فعالیت ضد باکتریایی اسیدفایر اپتوسید در مدت زمان‌های: ۱- ۳۰ ثانیه، ۲- ۶۰ ثانیه، ۳- ۹۰ ثانیه، ۴- ۱۲۰ ثانیه، ۵- ۰ ثانیه (شاهد مثبت) ۶- آب مقطر (به عنوان حلال اپتوسید- شاهد منفی)

حاضر بود (وجود فرمیک و پروپیونیک اسید در محصول مورد مطالعه). همچنین نشان داده شده است که ترکیب اسیدهای آلی در کنار هم بجای اسیدهای به صورت منفرد ممکن است طیف وسیع‌تری از فعالیت ضد باکتریایی را نشان دهند (Riemensperger و همکاران، ۲۰۱۲). در سال ۲۰۱۳، فعالیت ضد باکتریایی اسانس دارچین در برابر چندین سویه باکتری سالمونلا تیفی موریوم، سالمونلا پاراتیفی، اشرشیاکلای، استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس لچینیفرمیس مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه آزمایش شده در برابر تمام سویه‌های انتخاب شده فعالیت بسیار خوبی از خود نشان داد (مقادیر MIC بین ۲/۹ تا ۴/۸ mg/ml بود). بیشترین ماده موثره این ترکیب مربوط به سینامالدهید ۴/۳ درصد و سایر ترکیبات شامل اوژنول (۰/۳۲ درصد) و مقادیر جزئی از

بسیاری از مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که اسیدهای آلی (Dai و همکاران، ۲۰۲۱؛ Iqbal و همکاران، ۲۰۲۱) و عصاره‌های گیاهی (Iqbal و همکاران، ۲۰۲۱) به دلیل طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های ضد باکتریایی که دارند، جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها هستند (de Nova و همکاران، ۲۰۱۹). عبور مولکول‌های متوسط یا بزرگ از غشای باکتری‌های گرم منفی برعکس باکتری‌های گرم مثبت دشوارتر است. علاوه بر این، در باکتری‌های گرم منفی کانال‌های پروتئینی تعبیه شده در دولایه لیپیدی تنها اجازه انتشار ترکیبات با وزن مولکولی کم را می‌دهند (Nikaido و Vaara، ۱۹۸۵). بر این اساس، اسیدهای آلی همچون اسیدفرمیک و اسید پروپیونیک با کوتاه‌ترین طول زنجیره بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را در برابر اشرشیاکلای و گونه‌های سالمونلا نشان می‌دهند که همراستا با مطالعه

روزگی (دوره پایانی) و کل دوره آزمایش (۴۲-۲ روزگی) اثر افزودن اسیدی‌فایر اپتوسید به جیره روی مصرف خوراک معنی دار نشد ( $P > 0/05$ ). جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ درصد اسیدی‌فایر اپتوسید در مقایسه با پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد در دوره سنی پایانی ( $P \leq 0/02$ ) و کل دوره آزمایش ( $P \leq 0/01$ ) افزایش وزن روزانه بالاتری داشتند. همچنین ضریب تبدیل خوراک در دوره پایانی در پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ درصد اپتوسید نزدیک به معنی‌داری ( $P \leq 0/09$ ) در مقایسه با جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی اپتوسید بهبود یافت. شاخص تولید در پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی اپتوسید نسبت به پرندگان تغذیه شده با جیره شاهد به‌طور معنی‌داری ( $P \leq 0/02$ ) بالاتر بود (۳۳۰) در مقابل (۲۹۷). مشاهده اثر مثبت افزودن اپتوسید به جیره مصرفی بر میانگین وزن پایان دوره (۴۲ روزگی)، افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک در دوره پایانی به دست آمده از این آزمایش با گزارش سایر محققین مطابقت دارد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸؛ Antongiovanni و همکاران، ۲۰۰۷ و Fascina و همکاران، ۲۰۱۲). Fascina و همکاران (۲۰۱۲) از اسیدهای آلی (۳۰ درصد لاکتیک اسید، ۲۵/۵ درصد بنزوئیک اسید، ۷ درصد فرمیک اسید، ۸ درصد سیتریک اسید و ۶/۵ درصد استیک اسید) در جیره جوجه‌های گوشتی سبب بهبود شاخص‌های عملکردی شد. بهبود عملکرد ناشی از استفاده از اسیدهای آلی در جیره طیور ممکن است به علت کاهش pH خوراک مصرفی و محتویات هضمی باشد. همچنین دلیل دیگر آن کاهش جمعیت باکتری‌های بیماری‌زای حساس به pH که هم از نظر رقابت بر سر خوراک با پرند و هم مشکلاتی که از نظر هضم و جذب مواد مغذی ایجاد می‌کند مربوط باشد (Antongiovanni و همکاران، ۲۰۰۷). گزارش شده است که اسیدهای آلی دارای خواص محرک رشد هستند و می‌توانند به عنوان جایگزینی برای آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شوند (Fascina و همکاران، ۲۰۱۲). راندمان لاشه در پایان دوره آزمایش (۴۲ روزگی) تحت تاثیر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی واقع نشد ( $P > 0/05$ ). در توافقی با نتایج به دست آمده از این آزمایش گزارش شده است که افزودن اسید آلی به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی تاثیر معنی‌داری روی راندمان لاشه نشان نداد (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸، Garcia و همکاران، ۲۰۰۷ و Leeson و

کومینالدید و ۷-ترین بود (Naveed و همکاران، ۲۰۱۳). محققین نشان دادند که افزودن ترکیباتی همچون سینمالدئید به اسیدهای آلی سبب بروز اثرات هم افزایی بر مهار سوبیه‌های باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی می‌شوند (Riemensperger و همکاران، ۲۰۱۲). در واقع اسیدهای آلی زمانی می‌توانند به عنوان ترکیبات فعال در نظر گرفته شوند که MIC آن‌ها برابر یا کمتر از ۱۰۰۰ ppm باشد (Pearlin و همکاران، ۲۰۲۰؛ Ranasinghe و همکاران، ۲۰۱۲). دلیل تنوع در نتایج MIC در مطالعات مختلف را می‌توان به تفاوت در جنبه‌های تکنیکی روش‌های مورد استفاده (Balouiri و همکاران، ۲۰۱۶) و گونه‌های باکتریایی مورد مطالعه اشاره کرد (Vande Maele و همکاران، ۲۰۱۳).

### عملکرد رشد

نتایج مربوط اثر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی بر شاخص‌های عملکرد رشد در جدول ۳ گزارش شده است. در دوره آغازین (۱۰-۲ روزگی) جوجه‌هایی که با جیره فاقد اپتوسید تغذیه شده بودند در مقایسه با گروه تغذیه شده با جیره حاوی ۰/۱ درصد اپتوسید به‌طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) وزن ۱۰ روزگی بالاتر و مصرف خوراک بیشتری داشتند. کاهش مصرف خوراک می‌تواند در اثر کاهش سرعت تخلیه محتویات معده و کاهش سرعت عبور مواد مغذی داخل روده کوچک تحت تاثیر افزودن اسیدی‌فایر به جیره مصرفی باشد (Fjorck و Liljeberg، ۱۹۹۸). گزارش شده است خوراندن اسید استیک به جوجه‌های گوشتی باعث کاهش مصرف خوراک می‌شود (Elmaliah و Pinchasov، ۱۹۹۵؛ Brenes و همکاران، ۲۰۰۳) گزارش کردند که استفاده از ۲۰ گرم بر کیلوگرم اسید سیتریک منجر به کاهش معنی‌دار مصرف خوراک گردید. البته نتایج برخی گزارشات با نتایج بدست آمده در این تحقیق و گزارشات فوق مغایر است به‌طوری که گزارش شده است افزودن اسید استیک، اسید سیتریک و اسید لاکتیک به جیره جوجه‌های گوشتی باعث افزایش مصرف خوراک شد (Abdel-Fattah و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین Chowdhury و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که استفاده از ۰/۵ درصد اسید سیتریک منجر به افزایش مصرف خوراک در مقایسه با گروه شاهد گردید. اثر تیمارهای آزمایشی در دوره سنی ۲۳-۱۱ روزگی بر شاخص‌های عملکرد رشد معنی‌دار نشد ( $P > 0/05$ ). در مرحله سنی ۲۴-۴۲

گوشتی می‌شوند (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸ و Akbari و همکاران، ۲۰۰۴). مطالعات نشان داده است که تاثیر مثبت استفاده از افزودنی‌های خوراک زمانی مشاهده می‌شود که پرنده تحت شرایط پرورشی نامناسب نظیر قابلیت هضم پایین جیره، عدم رعایت بهداشت محیطی و یا وجود تنش و استرس در گله واقع شود (Lee و همکاران، ۲۰۰۳).

همکاران، ۲۰۰۵). به‌طور کلی مشاهده نتایج متناقض در اثر افزودن اسید آلی به آب مصرفی در آزمایشات مختلف ممکن است متأثر از شکل اسیدی فایر استفاده شده باشد. اسیدهای آلی با کمک به باکتری‌های مفید در ایجاد کلنی و غلبه بر جمعیت میکروب‌های مضر و ایجاد تعادل میکروبی در دستگاه گوارش اثرات مثبت خود را بر جای می‌گذارند و در نهایت باعث بهبود عملکرد رشد جوجه‌های

جدول ۳. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر شاخص‌های عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی

شاخص	شاهد	درصد اپتوسید	SEM	P-Value
وزن بدن در سن، گرم				
۱۰ روزگی	۲۹۰ <sup>a</sup>	۲۷۱ <sup>b</sup>	۵/۵۵	۰/۰۴
۲۳ روزگی	۹۸۱	۹۶۷	۱۸/۱۲	۰/۶۰
۴۲ روزگی	۲۱۲۷ <sup>b</sup>	۲۲۶۷ <sup>a</sup>	۲۳/۲۹	۰/۰۱
افزایش وزن روزانه در دوره سنی، گرم				
۱۰-۲ روزگی	۲۴/۹۰	۲۳/۱۲	۰/۶۰	۰/۰۷
۱۱-۲۳ روزگی	۵۳/۱۲	۵۳/۵۷	۱/۳۶	۰/۸۵
۲۴-۴۲ روزگی	۶۳/۷۰ <sup>b</sup>	۷۲/۲۳ <sup>a</sup>	۱/۹۳	۰/۰۲
۲-۴۲ روزگی	۵۱/۵۳ <sup>b</sup>	۵۵/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۵۸	۰/۰۱
مصرف خوراک روزانه در دوره سنی، گرم				
۱۰-۲ روزگی	۲۵/۲۲ <sup>a</sup>	۲۵/۰۰ <sup>b</sup>	۰/۰۶	۰/۰۲
۱۱-۲۳ روزگی	۷۶/۱۷	۷۸/۰۰	۱/۱۸	۰/۳۱
۲۴-۴۲ روزگی	۱۲۸/۴۷	۱۳۰/۹۹	۳/۹۸	۰/۶۷
۲-۴۲ روزگی	۸۸/۲۴	۸۹/۹۲	۱/۷۴	۰/۵۲
ضریب تبدیل خوراک در دوره سنی				
۱۰-۲ روزگی	۱/۰۱۶	۱/۰۸۲	۰/۰۲۵	۰/۱۱
۱۱-۲۳ روزگی	۱/۴۳۵	۱/۴۶۰	۰/۰۱۷	۰/۳۴
۲۴-۴۲ روزگی	۲/۰۲۱	۱/۸۱۸	۰/۰۷۵	۰/۰۹
۲-۴۲ روزگی	۱/۷۱۳	۱/۶۳۲	۰/۰۳۵	۰/۱۴
شاخص تولید	۲۹۷ <sup>b</sup>	۳۳ <sup>a</sup>	۸/۱۲	۰/۰۲
راندمان لاشه <sup>۱</sup>	۶۰/۱۴	۶۰/۸۸	۱/۶۷	۰/۷۶

<sup>a-b</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

<sup>۱</sup> لاشه بدون پوست

## عملکرد اقتصادی

نتایج مربوط به اثر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی بر شاخص‌های عملکرد اقتصادی در جدول ۴ گزارش شده است. اگرچه افزودن اپتوسید به میزان ۰/۱ درصد به جیره باعث افزایش قیمت هر کیلوگرم خوراک به میزان ۲۲۰ ریال شد (جدول ۱). با بررسی نتایج جدول ۴ مشاهده می‌شود، هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم وزن زنده (واحد تولید) در گروه دریافت کننده مکمل به میزان ۶۴۹۰ ریال کاهش یافته است. مطابق با شاخص فوق، درآمد حاصل از فروش

جدول ۴. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر عملکرد اقتصادی جوجه‌های گوشتی (۱۰ ریال)

تیمار	هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تولید <sup>۱</sup>	هزینه خوراک <sup>۲</sup>	درآمد حاصل از فروش <sup>۳</sup>	کسر هزینه خوراک از درآمد
شاهد	۱۳۷۹۲	۲۸۴۲۱	۳۶۸۸۵ <sup>b</sup>	۸۴۶۴
۰/۱ درصد اپتوسید	۱۳۱۷۵	۲۹۰۳۷	۳۹۳۱۷ <sup>a</sup>	۱۰۲۸۰
SEM	۲۷۷/۰۸	۵۵۲/۷۹	۴۰۳/۳۲	۶۱۹/۱۶
P-Value	۰/۱۶	۰/۴۵	۰/۰۱	۰/۰۷

<sup>۱</sup> هزینه خوراک به ازای یک کیلوگرم تولید = ضریب تبدیل خوراک × قیمت واحد وزن جیره

<sup>۲</sup> هزینه خوراک هر قطعه پرنده در طول دوره آزمایش = میزان مصرف خوراک هر قطعه × قیمت واحد وزن جیره

<sup>۳</sup> درآمد حاصل از پرورش هر قطعه پرنده در طول دوره آزمایش = میانگین وزن زنده در پایان دوره پرورش × قیمت مرغ زنده

<sup>a-b</sup> حروف غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

## جمعیت میکروبی و pH محتویات اندام‌های گوارشی

است که افزودن اسیدآلی به جیره، ضمن مهار کردن رشد میکروب‌های مضر، شرایط محیط را به نفع باکتری‌های مفیدی، چون لاکتوباسیلوس فراهم می‌کند (Ricke, ۲۰۰۳). همچنین استفاده از ۰/۲ و ۰/۴ درصد اسید فوماریک و اسید پروپیونیک، باعث افزایش پرگنه‌های لاکتوباسیل حاصل از کشت میکروبی محتویات دستگاه گوارش جوجه‌ها در سنین ۲۴ و ۴۲ روزگی می‌شود (Garcia و همکاران، ۲۰۰۷). در مطالعات مختلف گزارش شده است که بهبود عملکرد طیور در اثر استفاده از مکمل اسیدهای آلی می‌تواند ناشی از افزایش جمعیت میکروبی مفید روده، کاهش میزان وقوع عفونت‌ها و تقویت سیستم ایمنی طیور باشد (Islam و همکاران، ۲۰۰۸؛ Abdel-Azeem و همکاران، ۲۰۰۰ و Abdo و Zeinb، ۲۰۰۴). یکی از موضوع‌های مهم در

تأثیر افزودن اسیدی‌فایر اپتوسید به خوراک مصرفی روی pH بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و جمعیت میکروبی ژرژنوم جوجه‌های گوشتی در جدول ۵ گزارش شده است. نتایج نشان داد که اثر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی تأثیر معنی داری بر pH بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و جمعیت میکروبی ژرژنوم نداشت (P > ۰/۰۵). اقلام خوراکی مورد استفاده در تغذیه طیور دارای ظرفیت بافری بالایی هستند و لذا به دلیل افزایش ظرفیت بافری محتویات دستگاه گوارش pH محتویات پایدار بوده و کمتر تغییر می‌کند (Kalantar و همکاران، ۲۰۱۷)، در نتیجه مانع از تأثیر مورد انتظار افزودن اپتوسید بر کاهش pH دستگاه گوارش شده است (Chaveerach و همکاران، ۲۰۰۴). بر خلاف نتایج به دست آمده از این مطالعه نتایج برخی گزارشات علمی نشان داده

سمی با منشاء باکتریایی مانند آمونیاک و آمین‌ها است) سمی و Thompson و Hinton، (۱۹۹۷).

جیره اسیدی شده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان برای مصرف مواد غذایی قابل دسترس و شاید کاهش متابولیت‌های

**جدول ۵. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر جمعیت میکروبی ژژنوم (log cfu/g) و pH اندام‌های گوارشی جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی**

شاخص	شاهد	۰/۱ درصد اپتوسید	SEM	P- Value
جمعیت میکروبی ژژنوم	۷/۴۶	۷/۶۰	۰/۱۰	۰/۳۲
	۸/۰۸	۷/۹۸	۰/۱۹	۰/۷۳
	۸/۷۲	۸/۴۳	۰/۱۶	۰/۲۲
pH اندام‌های گوارشی	۴/۹۵	۴/۸۶	۰/۰۸	۰/۴۳
	۵/۵۹	۵/۴۸	۰/۰۹	۰/۴۲
	۷/۱۴	۷/۱۱	۰/۰۵	۰/۶۸

**هیستومورفومتری ژژنوم**

نتایج مربوط اثر افزودن اسیدی‌فایر اپتوسید به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی بر هیستومورفومتری ژژنوم در جدول ۶ گزارش شده است. اثر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی بر ارتفاع ویلی‌ها معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) شد. مطابق با نتایج به دست آمده از این آزمایش Kum و همکاران، (۲۰۱۰) گزارش کردند استفاده از مخلوط اسید آلی (۱ درصد اسید سوربیک و ۰/۲ درصد اسید سیتریک) به طور قابل توجهی عرض پرز، ارتفاع و مساحت دوازدهم، ژژنوم و ایلئوم جوجه‌های گوشتی را در سن ۱۴ روزگی افزایش داد. Hunter و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با جیره حاوی اسید فرمیک دارای بالاترین طول پرز (به ترتیب ۱۲۷۳ و ۱۲۵۰ میکرومتر برای ۰/۵ و یک درصد اسید فرمیک) در مقایسه با شاهد (۱۰۸۸ میکرومتر) بودند. به طور مشابه، عمق کریپت در پرندگان که با جیره حاوی یک درصد اسید فرمیک تغذیه می‌شدند، عمیق‌تر از پرندگان بود که از جیره‌های آنتی‌بیوتیکی تغذیه می‌کردند (Hunter و همکاران، ۲۰۱۷). Pelicano و همکاران (۲۰۰۵) ارتفاع پرزهای بیشتری را در ایلئوم با جیره مبتنی بر نمک‌های اسید

آلی در مقایسه با گروه آزمایشی شاهد گزارش کردند. افزایش ارتفاع پرزهای روده کوچک را می‌توان به نقش اپتیلوم روده به عنوان یک سد طبیعی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و مواد سمی موجود در لومن روده نسبت داد. نمک‌های اسید آلی با کاهش رشد بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زا روده سبب جلوگیری از کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش عفونت‌های ناشی از آن خواهد شد که در نتیجه آن، بهبود ارتفاع پرزهای روده و افزایش جذب مواد مغذی از روده اتفاق خواهد افتاد (Iji و Tivey، ۱۹۹۸). Hunter و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که در قسمت‌هایی از روده پرنده که مکمل نمک اسید آلی (فرمات آمونیوم و پروپیونات کلسیم) مصرف کرده بودند، ارتفاع پرزهای بخش‌های مختلف روده کوچک آن‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده بود که احتمالاً مرتبط با کاهش کلونیزاسیون باکتری‌های بیماری‌زا در روده می‌باشد. در نتیجه، کاهش ارتفاع پرز، افزایش ترن‌اور سلولی و کاهش ظرفیت هضم و جذب مواد مغذی وجود دارد (Pelicano و همکاران، ۲۰۰۵).

جدول ۶. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر هیستومرفومتري ژنوم جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

P- Value	SEM	۰/۱ درصد اپتوسید	شاهد	شاخص
۰/۰۳	۶۰/۷۲	۱۰۳۵ <sup>a</sup>	۷۸۵ <sup>b</sup>	ارتفاع ویلی، میکرومتر
۰/۶۶	۱۴/۷۸	۱۹۴	۱۸۴	عرض ویلی، میکرومتر
۰/۱۰	۱۸/۳۸	۲۳۸	۱۸۸	عمق کریپت، میکرومتر
۰/۵۲	۴/۲۰	۴/۴۵	۴/۲۰	نسبت طول ویلی به عمق کریپت
۰/۲۹	۰/۰۹	۰/۶۵	۰/۵۰	سطح جذبی ویلی <sup>۱</sup> ، میلی متر مربع

<sup>a-b</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

<sup>۱</sup> سطح جذبی ویلی = عرض ویلی × ارتفاع ویلی × ۳/۱۴ (Allahdo و همکاران، ۲۰۱۸).

### غلظت کلسیم و فسفر خون

در pH های پایین تر دستگاه گوارش و کاهش اتصال مواد معدنی به ترکیباتی مثل اگزالات‌ها و یا فیتات‌ها باشد، بعلاوه آنیون اسیدی حاصل از تفکیک شدن اسیدآلی با ایجاد پیوند با کاتیون‌های دو ظرفیتی از قبیل کلسیم، فسفر، منگنز و روی سبب بهبود جذب این مواد از روده می‌شوند (Baker و Edwards، ۱۹۹۹).

غلظت کلسیم و فسفر سرم خون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند (جدول ۷). بر خلاف نتایج به دست آمده از این آزمایش گزارش شده است، افزودن اسیدهای آلی به جیره می‌تواند قابلیت هضم مواد معدنی و استفاده از فسفر فیتاته را افزایش دهد (Park و همکاران، ۲۰۰۹). این افزایش در هضم و جذب مواد معدنی می‌تواند به علت افزایش حلالیت مواد معدنی

جدول ۷. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر مقدار غلظت کلسیم و فسفر خون جوجه‌های گوشتی (۲۸ روزگی)

P- Value	SEM	۰/۱ درصد اپتوسید	شاهد	شاخص
۰/۸۱	۰/۲۰	۷/۹۱	۷/۹۸	غلظت کلسیم سرم خون (mg/dl)
۰/۹۱	۰/۰۹	۴/۹۸	۴/۹۶	غلظت فسفر سرم خون (mg/dl)

### قابلیت هضم مواد مغذی

در مقایسه با گروه شاهد گزارش کردند. Samanta و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که اسیدهای آلی ترشح آنزیم‌های هضم کننده پروتئین را در معده افزایش می‌دهند و بدین طریق سبب بهبود قابلیت هضم پروتئین خواهند شد. این تصور وجود دارد که استفاده از اسیدهای آلی با کاهش pH معده سبب افزایش فعال سازی آنزیم پپسین شود (Pourreza و Afsharmanesh،

تحقیق پیش‌رو اثر بخشی معنی دار قابلیت هضم پروتئین را بر اثر افزودن اپتوسید به جیره مصرفی جوجه‌های گوشتی نشان داد ( $P < 0/05$ )؛ اگرچه قابلیت هضم ماده خشک تحت تاثیر معنی دار افزودن اپتوسید واقع نشد (جدول ۸). مطابق با نتایج به دست آمده از این آزمایش Hernandez و همکاران (۲۰۰۶) با گنجاندن فرمیک اسید در جیره (۰/۵ درصد) بهبود قابلیت هضم پروتئین را

آمونیاک در محیط روده و بهبود مساحت جذبی ویلی ها سبب بهبود قابلیت هضم پروتئین می شود (Garcia و همکاران، ۲۰۰۷).

۲۰۰۵). همچنین مکمل سازی جیره طیور با اسیدهای آلی از طریق کاهش جمعیت باکتری های بیماری زا که با میزان بر سر منابع غذایی رقابت می کند، کاهش اتلاف نیتروژن درونزا و تولید

جدول ۸. تاثیر افزودن اپتوسید به جیره بر قابلیت هضم ماده خشک و پروتئین در جوجه های گوشتی

شاخص	شاهد	۰/۱ درصد اپتوسید	SEM	P- Value
قابلیت هضم ماده خشک، درصد	۸۷/۷۰	۸۷/۷۶	۰/۳۶	۰/۸۹
قابلیت هضم پروتئین، درصد	۷۸/۸۲ <sup>b</sup>	۸۰/۵۰ <sup>a</sup>	۰/۴۳	۰/۰۲

<sup>a-b</sup> حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد می باشد.

### نتیجه گیری

نتایج به دست از این آزمایش نشان داد که؛ اسیدی فایر اپتوسید توانایی باکتری سایدی و باکتری استاتیک دارد. افزودن اپتوسید در سطح ۰/۱ درصد به جیره مصرفی جوجه های گوشتی باعث بهبود عملکرد تولیدی و اقتصادی، قابلیت هضم پروتئین و نمو ویلی های شد. به طور کلی می توان اظهار داشت، مکمل سازی جیره جوجه های گوشتی با اسیدی فایر باعث بهبود عملکرد رشد، سلامت و نمو دستگاه گوارش می شود.

Abdel-Fattah, S.A., El-Sanhoury, M.H., El-Mednay N.M., & Abdel-Azeem, F. (2008). Thyroid activity, some blood constituents, organs morphology and performance of broiler chicks fed supplemental organic acids. *International Journal of Poultry Science*, 7: 215-222.

Abdo, M. و & Zeinb A. (2004). Efficacy of acetic acid in improving the utilization of low protein-low energy broiler diets. *Egypt Poultry Science*, 24: 123-141.

Afsharmanesh, M., & Pourreza, J. (2005). Effects of calcium, citric acid, ascorbic acid, vitamin D<sub>3</sub> on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheat-based diets I. Performance, bone mineralization and ileal digestibility. *International journal of poultry science*, 418-424.

Akbari, M.R., Kermanshahi H., & Kalidari G.A. (2004). Effect of acetic acid administration in drinking water on performance and growth characteristics and ileal microflora of broiler chickens. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 3: 139-147 (In Persian).

Al-Kassi, A. G., & Mohssen, M. A. (2009). Comparative study between single organic acid effect and synergistic organic acid effect on broiler performance. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(6), 896-899.

### تقدیر و تشکر

به این وسیله مولفین از مدیریت شرکت افزودنی های خوراک دام و طیور بامداد رسپینا به جهت تامین هزینه های طرح و تهیه مکمل افزودنی و معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به جهت تصویب (کد طرح: ۱۰۲۳۵۳) و مساعدت در اجرای طرح تقدیر و تشکر می شود.

### منابع

Abdel-Azeem, F., El-Hommosany Y.M., & Nematallah, G.M. (2000). Effect of citric acid in diets with different starch and fiber levels on productive performance and some physiological traits of growing rabbits. *Egypt Journal Rabbit Science*, 10: 121-145.

- Allahdo, P., Ghodratty, J., Zarghi, H., Saadatfar, Z., Kermanshahi H., & Edalatian Dovom, MR. (2018). Effect of probiotic and vinegar on growth performance, meat yields, immune responses, and small intestine morphology of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*, 17:3, 675-685.
- Antongiovanni, M., Buccioni, A., Petacchi, F., Leeson, S., Minieri, S., Martini, A., & Cecchi, R. (2007). Butyric acid glycerides in the diet of broiler chickens: effects on gut histology and carcass composition. *Italian Journal of Animal Science*, 6(1), 19-25.
- AOAC: Association of Official Analytical Chemists 1990. Official Methods of Analysis, 15th Ed, Arlington, Virginia, USA.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Bolton, W., & Dewar, W.A. (1965). The digestibility of acetic, propionic and butyric acids by the fowl. *British Poultry Science*, 6: 103-105.
- Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M., & Bravo, C. (2003). The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*, 110: 201-219.
- Chaveerach, P., Keuzenkamp, D.A. Lipman L.J.A. & Van Knapen F. (2004). Effect of organic acids in drinking water for young broilers on Campylobacter infection, volatile fatty acid production, gut microflora and histological cell changes. *Poultry Science*, 83: 330-334.
- Chowdhury, R., Islam, K.M.S., Khan, M.J., Karim, M.R., Haque M.N., & Khatun, M. (2009). Effect of citric acid, avilamycin and their combination on the performance, tibia ash and immune status of broilers. *Poultry Science*, 8: 1616-1622.
- Dai, D., Qiu, K., Zhang, H. J., Wu, S. G., Han, Y. M., Wu, Y. Y., ... & Wang, J. (2021). Organic acids as alternatives for antibiotic growth promoters alter the intestinal structure and microbiota and improve the growth performance in broilers. *Frontiers in Microbiology*, 11, 618144.
- De Nova, P. J., Carvajal, A., Prieto, M., & Rubio, P. (2019). In vitro susceptibility and evaluation of techniques for understanding the mode of action of a promising non-antibiotic citrus fruit extract against several pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 10, 884.
- Dibner, J. J., & Buttin, P. (2002). Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *Journal of applied poultry research*, 11(4), 453-463.
- Edwards, H. M., & Baker, D. H. (1999). Effect of dietary citric acid on zinc bioavailability from soy products using an egg white diets with zinc sulfate heptahydrate as the stander. *Poultry Science*, 78(suppl 1), 576.
- Fascina, V. B., Sartori, J. R., Gonzales, E., Carvalho, F. B. D., Souza, I. M. G. P. D., Polycarpo, G. D. V., ... & Pelícia, V. C. (2012). Phytogenic additives and organic acids in broiler chicken diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(10), 2189-2197.
- Garcia, V., Catala-Gregori, P., Hernandez, F., Megias, M. D., & Madrid, J. (2007). Effect of formic acid and plant extracts on growth, nutrient digestibility, intestine mucosa morphology, and meat yield of broilers. *Journal of applied poultry research*, 16(4), 555-562.
- Hernandez, F., Garcia, V., Madrid, J., Orengo, J., Catalá, P., & Megias, M. D. (2006). Effect of formic acid on performance, digestibility, intestinal histomorphology and plasma metabolite levels of broiler chickens. *British Poultry Science*, 47(1), 50-56.
- Hunter, J. M., Anders, S. A., Crowe, T., Korver, D. R., & Bench, C. J. (2017). Practical assessment and management of foot pad dermatitis in commercial broiler chickens: A Field Study. *Journal of Applied Poultry Research*, 26(4), 593-604.
- Iji, P. A., & Tivey, D. R. (1998). Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. *World's Poultry Science Journal*, 54(2), 129-143.



- Iqbal, H., Rahman, A., Khanum, S., Arshad, M., Badar, I. H., Asif, A. R., ... & Iqbal, M. A. (2021). Effect of Essential Oil and Organic Acid on Performance, Gut Health, Bacterial Count and Serological Parameters in Broiler. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 23 (3), 1-10.
- Islam, M.Z., Khandaker, Z.H., Chowdhury S.D., & Islam K.M.S. (2008). Effect of citric acid and acetic acid on the performance of broilers. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 6: 315-320.
- Javadmanesh, A., Mohammadi, E., Mousavi, Z., Azghandi, M., & Tanhaeian, A. (2021). Antibacterial effects assessment on some livestock pathogens, thermal stability and proposing a probable reason for different levels of activity of thanatin. *Scientific reports*, 11(1), 1-10.
- Kalantar, M., Khajali, F., Yaghobfar, A., Pourreza, J., & Akbari, M.R. (2017). Effects of COMBO® enzyme supplemented wheat and wheat bran diet on growth performance and digesta physicochemical properties of broilers. *Research on Animal Production*, 8, 49-57 (In Persian).
- Kim, Y. Y., Kil, K. Y., & Oh, H. Y. In K. Han. 2005. Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(7), 1048.
- Kirchgessner, M., & Roth, F. X. (1991). Ergotropic effects through the nutritive use of organic acids. *zentralblatt fur hygiene und umweltmedizin. International Journal of Hygiene and Environmental Medicine*, 191(2-3), 265-276.
- Komijani, A., & Sobhani, H. (2005). Economic Analysis Theory and Application. (8th ed). University of Tehran.
- Kum, S., Eren, U., Onol, A., & Sandikci, M. (2010). Effects of dietary organic acid supplementation on the intestinal mucosa in broilers. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, 10, 463-468.
- Lee, K. W., Everts, H., Kappert, H. J., Frehner, M., Losa, R., & Beynen, A. C. (2003). Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. *British poultry science*, 44(3), 450-457.
- Leeson S., Namkung, H., Antongiovanni, M., & Lee, E.H. (2005). Effect of butyric acid on the performance and carcass yield of broiler chickens. *Poultry Science*. 84:1418-1422.
- Liljeberg, H., & Fjorck, I. (1998). Delayed gastric emptying rate may explain improved glycaemia in healthy subjects to a starchy meal with added vinegar. *European Journal of Clinical Nutrition*, 52: 368-371.
- Mousavi, Z., Tanhaeian, A., & Javadmanesh, A. (2022). Evaluation of antifungal properties of thanatin peptide and Chinaberry extract on bovine mastitis pathogens in vitro. *Veterinary Researches & Biological Products*, 35(1), 215-221.
- Mroz, Z., Koopmans, S. J., Bannink, A., Partanen, K., Krasucki, W., Øverland, M., & Radcliffe, S. (2006). Carboxylic acids as bioregulators and gut growth promoters in nonruminants. *In Biology of growing animals*, (4), 81-133.
- Murry, A. C., Hinton, A., & Morrison, H. (2004). Inhibition of growth of Escherichia coli, Salmonella typhimurium, and Clostridia perfringens on chicken feed media by Lactobacillus salivarius and Lactobacillus plantarum. *International Journal of Poultry Science*, 3(9), 603-607.
- Nabavi, S. F., Daglia, M., Moghaddam, A. H., Habtemariam, S., & Nabavi, S. M. (2014). Curcumin and liver disease: from chemistry to medicine. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(1), 62-77.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Habtemariam, S., Moghaddam, A. H., Sureda, A., Jafari, M., & Latifi, A. M. (2013). Hepatoprotective effect of gallic acid isolated from Peltiphyllum peltatum against sodium fluoride-induced oxidative stress. *Industrial Crops and Products*, 44, 50-55.
- Nabavi, S. M., Marchese, A., Izadi, M., Curti, V., Daglia, M., & Nabavi, S. F. (2015). Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: From farm to pharmacy.

- Food chemistry*, 173, 339-347.
- Naveed, R., Hussain, I., Tawab, A., Tariq, M., Rahman, M., Hameed, S., ... & Iqbal, M. (2013). Antimicrobial activity of the bioactive components of essential oils from Pakistani spices against Salmonella and other multi-drug resistant bacteria. *BMC complementary and alternative medicine*, 13(1), 1-10.
- Nikaido, H., & Vaara, M. (1985). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiological reviews*, 49(1), 1-32.
- Park, K. W., Rhee, A. R., Um, J. S., & Paik, I. K. (2009). Effect of dietary available phosphorus and organic acids on the performance and egg quality of laying hens. *Journal of Applied Poultry Research*, 18(3), 598-604.
- Paul, S. K., Halder, G., Mondal, M. K., & Samanta, G. (2007). Effect of organic acid salt on the performance and gut health of broiler chicken. *The Journal of Poultry Science*, 44(4), 389-395.
- Pearlin, B. V., Muthuvel, S., Govidasamy, P., Villavan, M., Alagawany, M., Ragab Farag, M., ... & Gopi, M. (2020). Role of acidifiers in livestock nutrition and health: A review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(2), 558-569.
- Pelicano, E. R. L., Souza, P. A., Souza, H. B. A., Figueiredo, D. F., Boiago, M. M., Carvalho, S. R., & Bordon, V. F. (2005). Intestinal mucosa development in broiler chickens fed natural growth promoters. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 7(4), 221-229.
- Pinchasov, Y., & Elmaliah, S. (1995). Broiler chick responses to anorectic agents: Dietary acetic and propionic acids and the blood metabolites. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 39: 107-116.
- Ranasinghe, P., Jayawardana, R., Galappaththy, P., Constantine, G. R., de Vas Gunawardana, N., & Katulanda, P. (2012). Efficacy and safety of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as a pharmaceutical agent in diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic medicine*, 29(12), 1480-1492.
- Ricke, S.C. (2003). Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, 82: 632-639.
- Riemensperger, A. V., Bachinger, D., Schaumberger, S., Urbaityte, R., & Pasteiner, S. (2012). The effect of an organic acid blend, cinnamaldehyde and a permeabilising substance on the inhibition of bacterial growth in vitro and growth performance of weaning pigs. *veterinary medicine zootechnical*, 60, 59-66.
- Samanta, S., Haldar, S., & Ghosh, T. K. (2010). Comparative efficacy of an organic acid blend and bacitracin methylene disalicylate as growth promoters in broiler chickens: effects on performance, gut histology, and small intestinal milieu. *Veterinary medicine international*, 2010.
- Seidavi, A., Tavakoli, M., Slozhenkina, M., Gorlov, I., Hashem, N. M., Asroosh, F., ... & Swelum, A. A. (2021). The use of some plant-derived products as effective alternatives to antibiotic growth promoters in organic poultry production: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(35), 47856-47868.
- Thompson, J.L., & Hinton, M. (1997). Antibacterial activity of formic and propionic acids in the diet of hens and salmonellas in the crop. *British Poultry Science*, 38: 159-165.
- UFFDA. (1992). User-friendly feed formulation done again University of Georgia. Athens (GA): UFFDA.
- Vande Maele, L., Heyndrickx, M., De Pauw, N., Mahu, M., Verlinden, M., Haesebrouck, F., ... & Pasmans, F. (2013). In vitro sensitivity of *Brachyspira hyodysenteriae* to organic acids and essential oil components. *In 6th Conference on Colonic Spirochaetal Infections in Animals and Humans*, 86-86.
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016). Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *International journal of molecular sciences*, 17(5), 603-614.