

## Study on the Effects of Dietary Addition of Organic Acids Program on Growth Performance, Intestinal Morphology, Acidity and Microbial Count in Male Broiler Chickens

## مطالعه اثرات برنامه افزودن اسیدهای آلی به خوراک روی عملکرد رشد، مورفولوژی، اسیدیته و شمار میکروبی روده جوجه خروس های گوشتی

Fatemeh Moradi<sup>1</sup>, Hamidreza Aliakbarpour<sup>2\*</sup>, Seyed Masood Hashemi<sup>3</sup>

1. Ph. D., Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.
2. Assistant Professor, department of Animal Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.
3. Assistant Professor, department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Babol Branch, Islamic Azad University, Babol, Iran.

فاطمه مرادی<sup>۱</sup>، حمیدرضا علی‌اکبرپور<sup>۲\*</sup>، سید مسعود هاشمی<sup>۳</sup>

۱. دکتری دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.
۲. استادیار، گروه تغذیه، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.
۳. استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران.

(Received: Oct. 02, 2022 - Accepted: Feb. 16, 2023)

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۷)

### Abstract

Different acidifiers have been introduced for animal nutrition in terms of type of organic acids and their composition. This study aimed to investigate the effects of consumption acidifier obtained from a mixture of organic acids (containing formic, citric, propionic and acetic acid and their salts) on the broiler chicks growth performance and some intestinal parameters. Therefore, one hundred eighty 1-d old male Ross broiler chicks were studied in a completely randomized design to 3 nutritional treatments with 6 replicates and 10 broiler chicks in each replicate, from d 0 to 35 posthatch. The treatments included 1) a corn-soybean based commercial diet or Un-supplemented diet (Control), 2) Control diet supplemented with acidifier daily and 3) Control diet supplemented with acidifier every other day. All of dietary treatments were formulated to meet the National Research Council (1994) and Ross nutrient requirements for starter (1 to 11 d), grower (12 to 24 d), and finisher (25 to 35 d) growth periods. The results showed that in the starter and grower phase, feed intake in groups 2 and 3 that had consumed organic acids were less than control group or un-supplemented organic acids ( $p < 0.05$ ). In the starter phase, mean of body weight gain of un-supplemented group or control was higher than the groups 2 and 3 or supplemented daily and every other day group, respectively ( $p < 0.05$ ). The experimental groups showed no significant change in their body weight gain during grower and finisher phases as well as whole rearing period affected by consumption of organic acids. The group 2 (daily supplemented) had better feed conversion ratio than control group during growth period ( $p < 0.05$ ). The mean of ileal *Enterobacteriaceae* counts for the groups that had consumed acidifiers (daily or every other day) were significantly lower than control group ( $p < 0.05$ ). The mean of villus length, villus width, crypt depth and villus height to crypt depth ratio of the ileum had no significant difference between groups affected by consumption of organic acids. The pH of ileal and duodenal contents between groups showed no significance. The results of the present study revealed that supplemented diets with organic acids can reduce some of intestinal pathogens, improve the feed conversion ratio. Daily consumption of Organic acids was more effective than when it was consumption every other day for the bird growth performance characteristics.

### چکیده

اسیدیفایرهای مختلف از لحاظ نوع و نسبت اسیدهای آلی برای مصرف در تغذیه جانوران معرفی شده‌اند. آزمایش با هدف بررسی اثرات مصرف اسیدیفایر حاصل از مخلوط اسیدهای آلی (فرمیک، سیتریک، پروپیونیک، استیک به همراه نمک‌های آن‌ها) و برنامه مصرف آن روی صفات عملکردی و برخی خصوصیات روده جوجه‌های گوشتی انجام پذیرفت. از این رو ۱۸۰ قطعه جوجه خروس یک روزه سویه راس، در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تیمار، شش تکرار و ۱۰ جوجه در هر تکرار، به مدت ۳۵ روز مورد بررسی قرار گرفتند. تیمارها شامل ۱- جیره پایه (شاهد)، ۲- جیره پایه حاوی مصرف روزانه اسیدهای آلی ۳- جیره پایه حاوی مصرف یک روز در میان اسیدهای آلی بود. در مراحل آغازین و رشد، مصرف خوراک گروه‌های ۲ و ۳ نسبت به شاهد کم‌تر بود ( $P < 0.05$ ). در مرحله آغازین، رشد شاهد بیش‌تر از گروه‌های ۲ و ۳ بود ( $P < 0.05$ ). تفاوت معنی‌داری در رشد گروه‌های آزمایشی طی مراحل رشد، پایانی و انتهای دوره پرورش مشاهده نشد. گروه ۲ در مرحله رشد، ضریب تبدیل خوراک بهتر نسبت به شاهد داشت ( $P < 0.05$ ). شمار انتروباکتریاسه ایلئوم گروه‌های ۲ و ۳ کم‌تر از شاهد بود ( $P < 0.05$ ). میانگین ارتفاع، عرض و مساحت پرز، عمق کریپت و هم‌چنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت در ایلئوم و pH محتویات ایلئوم و دئودنوم تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های آزمایشی نداشت. نتایج نشان داد، مصرف اسیدهای آلی سبب کاهش شمار برخی میکروارگانیسم‌های مضر روده و بهبود ضریب تبدیل خوراک می‌شود. مصرف روزانه اسیدهای آلی نسبت به یک‌روز در میان، تأثیر مهم‌تری روی بهبود عملکرد پرند دارد.

**واژه‌های کلیدی:** انتروباکتریاسه، اسیدهای آلی، جوجه گوشتی، رشد، روده.

**Keywords:** Broiler, Enterobacteriaceae, growth, intestine, organic acids.

\* نویسنده مسئول: حمیدرضا علی‌اکبرپور

Email: hrAliakbarpour@gmail.com

## مقدمه

عملکرد این مواد افزودنی خوراکی می‌باشد. بر این اساس نیاز است تا مطالعات بیش‌تری در خصوص اثرات استفاده از این افزودنی‌ها صورت پذیرد ( Elhassan *et al.*, 2019). از این‌رو، هدف از این مطالعه بررسی اثر افزودن مکمل تجاری حاوی مخلوط اسیدهای آلی (فرمیک، سیتریک، پروپیونیک، استیک به‌همراه نمک‌های آن‌ها) به جیره جوجه‌های گوشتی و برنامه مصرف آن روی پاسخ‌های بیولوژیک جوجه‌های گوشتی (عملکرد رشد و هم‌چنین مورفولوژی، شمار میکروبی و pH روده) بود.

## مواد و روش‌ها

کلیه مراحل این آزمایش توسط کمیته ملی اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی تأیید و با شماره ۳۳۶۱۷ ثبت شد. در این آزمایش به‌منظور بررسی اثر اسیدهای آلی و برنامه متفاوت مصرف آن‌ها، ۱۸۰ قطعه جوجه خروس گوشتی سویه راس در قالب سه گروه تغذیه‌ای مورد بررسی قرار گرفتند. هر گروه حاوی شش تکرار و در هر تکرار ۱۰ قطعه جوجه بود. در ابتدای ورود جوجه‌ها به داخل سالن پرورش، به‌صورت انفرادی وزن‌کشی شدند و جوجه‌های با وزن مشابه به‌صورت تصادفی در تکرارها قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی شامل ۱- جیره تجاری برپایه ذرت و سویا (شاهد)، ۲- جیره شاهد به‌علاوه مصرف روزانه اسیدهای آلی و ۳- جیره شاهد به‌علاوه مصرف یک روز درمیان اسیدهای آلی بود. همه گروه‌های آزمایشی از نظر اجزا و ترکیب شیمیایی جیره مشابه بودند و تفاوت میان گروه‌ها فقط در استفاده از اسیدهای آلی و برنامه مصرف آن بود. اسیدهای آلی مورد استفاده با نام تجاری A-Cid (شرکت فرتاک، مشهد، ایران)، حاوی اسید فرمیک، اسید سیتریک، اسید پروپیونیک، اسید استیک به‌همراه نمک‌های آن‌ها بود که مطابق توصیه شرکت سازنده به شکل سرک به مقدار ۱/۵ گرم به هر کیلوگرم دان اضافه شد. جیره غذایی در سه مرحله تغذیه‌ای شامل، آغازین (صفر تا ۱۱ روزگی)، رشد (۱۲ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۳۵ روزگی)، در اختیار جوجه‌ها قرار گرفت (جدول ۱).

اسیدهای آلی در واقع اسیدهای کربوکسیلیک هستند که ساختار شیمیایی R-COOH در آن‌ها وجود دارد. مدت‌ها است که اسیدهای آلی کوتاه زنجیر مانند اسید فرمیک، استیک، پروپیونیک، بوتیریک و دیگر اسیدهای کربوکسیلیک مانند اسید لاکتیک، مالیکو تارتاریک، فوماریک و سیتریک به‌عنوان یکی از افزودنی‌های خوراکی طبیعی با پتانسیل ضد میکروبی و جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد معرفی شده‌اند ( Kim *et al.*, 2015). بیش از ۳۰ سال است که اسیدهای آلی در تغذیه طیور استفاده می‌شوند ( Adhikari *et al.*, 2020). اسیدهای آلی مرسوم مورد استفاده در تغذیه حیوانات اسیدهای ضعیفی هستند که pKa آن‌ها در دامنه ۳ تا ۵ قرار دارد (Vinolya *et al.*, 2021). به‌دلیل این که این اسیدها به شکل آزاد خود، فرار و خورنده هستند، لذا آن‌ها را به شکل نمک‌های اسیدهای آلی تولید و مصرف می‌نمایند (Melaku *et al.*, 2021). اسیدهای آلی تفکیک‌نشده، پس از ورود به درون سیتوپلاسم سلول به آنیون باردار و پروتون تفکیک می‌شوند که این اتفاق موجب تغییر تعادل یون‌های هیدروژن و افزایش pH سلول‌های میکروارگانیسم‌های پاتوژن شده و با مهار واکنش‌های متابولیکی موجب تجمع آنیون‌های سمی و ممانعت از سنتز پروتئین‌هایی حیاتی می‌شوند (Greene *et al.*, 2022).

اگرچه برخی از پژوهش‌گران اهمیت استفاده از اسیدهای آلی در تغذیه طیور را ناشی از اثرات مفید آن‌ها روی کاهش پاتوژن‌های کانال گوارش ( Adhikari *et al.*, 2020)، بهبود مورفولوژی روده، افزایش ابقای مواد مغذی در بدن، افزایش عملکرد سیستم ایمنی و رشد گزارش نموده‌اند ( Greene *et al.*, 2022; Swaggerty *et al.*, 2022; Elhassan *et al.*, 2016; Abdelrazek *et al.*, 2019)، اما گزارش‌های ضد و نقیض در ارتباط با مصرف اسیدهای آلی توسط پژوهش‌گران منتشر شده است که نشان‌دهنده وجود شکاف دانش در مورد مکانیسم‌های دقیق یا نحوه

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و آنالیز جیره پایه

پایانی (۲۵ تا ۳۵ روزگی)	رشد (۱۲ تا ۲۴ روزگی)	آغازین (صفر تا ۱۱ روزگی)	اجزای جیره (درصد)
۶۳/۲۲	۵۸/۲	۵۲/۹۳	ذرت
۶۸۵/۲۹	۳۴/۸۵	۴۰/۴۴	کنجاله سویا
۲/۱۵	۲/۸۳۱	۲/۱۵	روغن سویا
۱/۵۸	۱/۷۶۴	۲/۰۳	دی کلسیم فسفات ۱۸٪
۰/۶۶	۰/۷۳	۰/۸۳	کلسیم کربنات
۰/۲۹	۰/۳۱	۰/۳۶	دی ال متیونین
۰/۲۵	۰/۲۶	۰/۲۷	نمک
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	ویتامین <sup>۱</sup>
۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵	مکمل معدنی <sup>۲</sup>
۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۱۹	ال لیزین هیدروکلرید ۷۸٪
۰/۰۹	۰/۱۰	۰/۱۳	ال ترئونین ۹۸/۵٪
۰/۲۲	۰/۲۰	۰/۱۰	بی کربنات سدیم
۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۰۶	کولین کلرید ۶۰٪
			آنالیز شیمیایی محاسبه شده
۳۰۰۰	۲۹۱۶	۲۸۱۴	انرژی (kcal/kg)
۱۷/۴۰	۱۹/۱۲	۲۱	پروتئین (درصد)
۱/۰۴	۱/۱۶	۱/۳۰	لیزین (درصد)
۰/۸۱	۰/۸۷	۰/۹۶	متیونین + سیستئین (درصد)
۰/۵۴	۰/۵۸	۰/۶۵	متیونین (درصد)
۰/۹۱	۰/۸۱	۰/۷۴	ترونین (درصد)
۰/۷۱	۰/۸۰	۰/۹۰	کلسیم (درصد)
۰/۳۶	۰/۴۰	۰/۴۵	فسفر (درصد)

(۱) مکمل ویتامینی در هر کیلوگرم خوراک شامل ویتامین‌های A، ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی، B<sub>1</sub>، ۱/۸ میلی‌گرم، B<sub>2</sub>، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم، بیوتین ۰/۱ میلی‌گرم، D<sub>3</sub>، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی، E، ۱۸ واحد بین‌المللی، K<sub>3</sub>، ۲ میلی‌گرم، کولین کلراید ۵۰۰ میلی‌گرم.

(۲) مکمل معدنی در هر کیلوگرم خوراک شامل اکسیدمنگنز ۱۰۰ میلی‌گرم، سولفات آهن ۵۰ میلی‌گرم، اکسیدروی ۱۰۰ میلی‌گرم، سولفات مس ۱۰ میلی‌گرم، یدات کلسیم ۱ میلی‌گرم، سدیم سلنیت ۰/۲ میلی‌گرم.

روزگی و هم‌چنین ۳۵ روزگی (پایان آزمایش) جوجه‌ها به‌صورت انفرادی وزن‌کشی شدند. رکوردهای مربوط به مصرف خوراک براساس هر تکرار به‌صورت روزانه در طول دوره آزمایش ثبت شد. ضریب تبدیل خوراک به‌صورت میانگین هر قطعه پرنده در طول دوره‌های رکوردگیری محاسبه شد (Farhangian et al., 2021).

#### شمار جمعیت میکروبی ایلئوم

به‌منظور بررسی شمار میکروبی ایلئوم، ۵ سانتی‌متر بعد از زائده مکل، تا انتهای سکوم هر پرنده جداسازی و در کنار شعله بلافاصله دو انتهای آن بسته و درون پلیت‌های اختصاصی روی یخ قرار داده شد و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد. تمام ابزارها و وسایل مورد

در این بررسی از برنامه نوردهی دائمی و از رول کاغذی به‌عنوان بستر در درون تکرارها استفاده گردید. کلیه برنامه‌های مدیریت براساس راهنمای پرورش جوجه‌های گوشتی نژاد راس انجام گرفت. به‌منظور بررسی مورفولوژی، اندازه‌گیری pH و شمار میکروبی روده در انتهای آزمایش (سن ۳۵ روزگی) یک قطعه پرنده از هر واحد آزمایشی (شش پرنده از هر گروه آزمایشی) به‌طور تصادفی انتخاب و بعد از وزن‌کشی به روش بریدن گردن از ناحیه بین مهره اول و دوم کشتار شدند.

#### عملکرد رشد

در هنگام تغییر مرحله تغذیه‌ای طی سنین ۱۱ و ۲۴

شد و بعد از رنگ‌آمیزی (هماتوکسیلین ائوزین)، ارتفاع و عرض پرز و همچنین عمق کریپت با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus مجهز به دوربین HD TCapture Image و نرم‌افزار Lite 1080P Analysis System اندازه‌گیری شد. فاصله بین پایه تا رأس پرز و همچنین فاصله بین طرفین پایه پرز به ترتیب به‌عنوان ارتفاع و عرض پرز در نظر گرفته شد (Aliakbarpour *et al.*, 2012). سپس نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت محاسبه شد و مساحت هر پرز محاسبه شد (Banaszak *et al.*, 2020).

#### pH دئودنوم و ایلئوم

به‌منظور اندازه‌گیری pH محتویات دستگاه گوارش، ۰/۵ گرم نمونه از محتویات قسمت ابتدایی دئودنوم و ایلئوم وزن شده و به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر به‌مدت پنج دقیقه به‌خوبی مخلوط و سپس pH محلول حاصل با استفاده از الکتروود pH متر (Digital desktop pH meter-PTR79-Zag chimi- IRAN) اندازه‌گیری شد (Gao *et al.*, 2021).

#### مدل آماری

با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار آماری SAS (SAS Institute, 2003) داده‌های حاصل از این آزمایش برای مدل طرح کاملاً تصادفی تجزیه شدند. قبل از تجزیه داده‌ها، نرمال‌بودن توزیع آن‌ها با استفاده رویه Univaraitه آزمون شد. برای مقایسه میانگین‌ها نیز از آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

#### نتایج

##### عملکرد رشد

نتایج عملکرد رشد در جدول ۲ نشان می‌دهد که میانگین مصرف خوراک گروه‌های آزمایشی در مراحل آغازین و رشد به‌طور معنی‌داری با هم متفاوت است به‌طوری که بیش‌ترین میزان مصرف خوراک مربوط به گروه شاهد بود و میزان مصرف خوراک گروه ۳ نسبت به گروه ۲ در

نیاز، از قبل با قرارگرفتن به‌مدت ۲۰ دقیقه درون اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌طور کامل استریل شدند. در آزمایشگاه ابتدا با افزودن ۳ گرم از محتویات بخش میانی ایلئوم به ۳ سی‌سی آب مقطر استریل، سوسپانسیون هموزن تهیه شد. سپس ۱ سی‌سی از سوسپانسیون تهیه‌شده به ۴ سی‌سی آب مقطر اضافه شد و در مراحل بعد هفت سری رقت با ضریب رقت ۰/۱ از آن تهیه شد. از رقت‌های تهیه‌شده به روش پلت‌کانت جهت شمارش میکروارگانیزم‌های هدف استفاده شد. رقت‌هایی که تعداد کلنی‌های آن‌ها بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد بودند، مورد شمارش قرار گرفتند و با ضرب تعداد آن‌ها در میزان رقت مربوطه شمار باکتری‌ها تعیین شود و نتایج به‌صورت لگاریتم واحد کلنی به‌ازای هر گرم محتویات گزارش شد. برای شمارش لاکتوباسیل و انتروباکتریاسه به‌ترتیب مطابق روش Zhang *et al.* (2022) و Roofchaei *et al.* (2019) از محیط‌های کشت MRS آگار (Merck 11060) و EMB آگار (Merck 101347) استفاده شد. برای شمارش کل باکتری‌های هوازی نیز از محیط کشت Mueller-Hinton agar استفاده شد (Garcia & Isenberg, 2007).

##### مورفولوژی روده

در حین نمونه‌برداری میکروبی روده، قطعاتی به اندازه ۱ سانتی‌متر از قسمت میانی ایلئوم برداشت شد. تخلیه محتویات قطعات جداشده از ایلئوم با استفاده از سرنگ ۰/۵ میلی‌لیتری حاوی سرم نرمال سالین، صورت گرفت. سپس نمونه‌ها تا زمان تهیه بلوک‌های بافتی درون بافر فسفات‌فرمالین ۰/۱ درصد نگهداری شدند. پس از ارسال نمونه‌ها به آزمایشگاه و تثبیت درون فرمالین ۱۰ درصد، آبگیری، شفاف‌سازی و قرار گرفتن در پارافین با استفاده از تیشوپروسور (Shadon Citadel 1000) بلوک‌های بافتی تهیه شد. با استفاده از میکروتوم (Leica RM2125) برش‌هایی با ضخامت ۰/۵ میکرومتر تهیه و بر روی لام قرار داده

جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین شمار انتروباکتریاسه ایلئوم گروه‌های مصرف‌کننده اسیدهای آلی (۲ و ۳) به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کم‌تر بود ( $P < 0.05$ ). شمار کل باکتری‌های هوازی و لاکتوباسیل‌ها در گروه‌های آزمایشی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت.

### مورفولوژی روده

براساس نتایج حاصل از مطالعه مورفولوژی ایلئوم در جدول ۴، تفاوت معنی‌داری تحت تأثیر مصرف اسیدهای آلی و تغییر برنامه مصرف آن میان گروه‌های آزمایشی از نظر ارتفاع، عرض و مساحت پرز، عمق کریپت و همچنین نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت وجود نداشت ( $P > 0.05$ ).

مرحله آغازین کم‌تر بود ( $P < 0.05$ )، اما میانگین مصرف خوراک در مراحل پایانی و همچنین کل خوراک مصرفی میان گروه‌های آزمایشی تفاوت معنی‌داری باهم نداشت. میزان رشد گروه شاهد در مرحله آغازین بیش از دیگر گروه‌ها بود ( $P < 0.05$ ). درحالی‌که در مراحل رشد، پایانی و همچنین انتهای دوره آزمایش (صفر تا ۳۵ روزگی) تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های آزمایشی از لحاظ میزان رشد مشاهده نشد. اگرچه ضریب تبدیل خوراک در مراحل آغازین، پایانی و کل دوره پرورش میان گروه‌های آزمایشی معنی‌دار نیست اما در مرحله رشد، ضریب تبدیل خوراک گروه ۲ نسبت به شاهد بهبود یافت ( $P < 0.05$ ).

### شمار جمعیت میکروبی ایلئوم

نتایج شمار میکروبی روده در گروه‌های آزمایشی در

جدول ۲. عملکرد رشد گروه‌های آزمایشی (میانگین  $\pm$  SD)

P-value	گروه‌های آزمایشی*			عملکرد	سن به روز (مرحله تغذیه)
	۳	۲	۱		
0.0001	140/67 <sup>c</sup> ± 7/17	169/00 <sup>b</sup> ± 11/92	189/37 <sup>a</sup> ± 0/51	مصرف خوراک (گرم)	صفر تا ۱۱ (آغازین)
0.0001	139/83 <sup>c</sup> ± 11/62	164/17 <sup>b</sup> ± 12/73	184/67 <sup>a</sup> ± 10/23	رشد (گرم)	
0.7946	1/01 ± 0/04	1/03 ± 0/07	1/03 ± 0/06	ضریب تبدیل خوراک	
0.0001	954/03 <sup>b</sup> ± 29/20	981/79 <sup>b</sup> ± 49/93	1143/33 <sup>a</sup> ± 66/60	مصرف خوراک (گرم)	۱۴ تا ۲۴ (رشد)
0.1800	576/33 ± 50/95	604/74 ± 36/37	628/62 ± 49/83	رشد (گرم)	
0.0498	1/67 <sup>ab</sup> ± 0/11	1/63 <sup>b</sup> ± 0/09	1/83 <sup>a</sup> ± 0/19	ضریب تبدیل خوراک	
0.5977	173/03 <sup>c</sup> ± 86/39	1689/32 ± 215/67	1642/77 ± 104/46	مصرف خوراک (گرم)	۲۵ تا ۳۵ (پایانی)
0.0621	1082/78 ± 88/94	968/70 ± 206/27	871/23 ± 97/60	رشد (گرم)	
0.2772	1/61 ± 0/21	1/81 ± 0/45	1/90 ± 0/18	ضریب تبدیل خوراک	
0.3234	2825/06 ± 98/72	2840/11 ± 252/53	2975/46 ± 166/89	مصرف خوراک (گرم)	صفر تا ۳۵ (کل)
0.3559	1798/94 ± 50/06	1737/60 ± 213/74	1684/51 ± 71/36	رشد (گرم)	
0.0612	1/57 ± 0/09	1/65 ± 0/20	1/77 ± 0/06	ضریب تبدیل خوراک	

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

\* ۱- جیره بدون اسیدهای آلی (شاهد)، ۲- جیره شاهد همراه با مصرف روزانه اسیدهای آلی، ۳- جیره شاهد همراه با مصرف یک روز در میان اسیدهای آلی.

جدول ۳. شمار جمعیت میکروبی ایلئوم (Log cfu/gr) گروه‌های آزمایشی (میانگین  $\pm$  SD)

P-value	گروه‌های آزمایشی*			باکتری
	۳	۲	۱	
0.7288	9/45 ± 0/11	9/49 ± 0/17	9/39 ± 0/15	کل باکتری‌های هوازی
0.1373	9/49 ± 0/05	9/77 ± 0/04	9/49 ± 0/28	لاکتوباسیل
0.0083	7/40 <sup>b</sup> ± 0/03	7/41 <sup>b</sup> ± 0/09	7/60 <sup>a</sup> ± 0/04	انتروباکتریاسه

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $p < 0.05$ ).

\* ۱- جیره بدون اسیدهای آلی (شاهد)، ۲- جیره شاهد همراه با مصرف روزانه اسیدهای آلی، ۳- جیره شاهد همراه با مصرف یک روز در میان اسیدهای آلی.

جدول ۴. نتایج مطالعه مورفولوژی ایلئوم گروه‌های آزمایشی (میانگین  $\pm$  SD)

P-value	گروه‌های آزمایشی*			ریخت‌شناسی
	۳	۲	۱	
۰/۹۱۰۳	۸۴۹/۵۹ $\pm$ ۲۳۴/۸۴	۸۰۴/۰۸ $\pm$ ۱۶۲/۰۵	۸۲۵/۴۷ $\pm$ ۱۳۱/۳۷	طول پرز ( $\mu\text{m}$ )
۰/۳۵۶۸	۱۷۲/۳۷ $\pm$ ۳۳/۷۴	۱۶۰/۶۰ $\pm$ ۲۰/۹۵	۱۵۱/۷۲ $\pm$ ۱۳/۱۱	عرض پرز ( $\mu\text{m}$ )
۰/۳۹۷۳	۱۹۲/۱۴ $\pm$ ۱۹/۳۱	۱۸۴/۸۰ $\pm$ ۲۶/۸۹	۲۰۵/۳۰ $\pm$ ۲۷/۶۶	عمق کریپت ( $\mu\text{m}$ )
۰/۷۸۷۵	۴/۴۱ $\pm$ ۰/۹۸	۴/۳۶ $\pm$ ۰/۷۵	۴/۰۸ $\pm$ ۰/۸۶	عمق کریپت/ طول پرز
۰/۵۶۵۵	۰/۴۷ $\pm$ ۰/۲۰	۰/۴۱ $\pm$ ۰/۰۹	۰/۳۹ $\pm$ ۰/۰۶	مساحت پرز ( $\text{mm}^2$ )

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

\* ۱- جیره بدون اسیدهای آلی (شاهد)، ۲- جیره شاهد همراه با مصرف روزانه اسیدهای آلی، ۳- جیره شاهد همراه با مصرف یک روز در میان اسیدهای آلی.

### pH دئودنوم و ایلئوم

نتایج جدول ۵ نشان می‌دهد که میانگین pH محتویات بخش‌های دئودنوم و ایلئوم روده کوچک در گروه‌های آزمایشی مختلف از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشت ( $P > 0.05$ ).

جدول ۵. اسیدیته محتویات دئودنوم و ایلئوم گروه‌های

آزمایشی (میانگین  $\pm$  SD)

P-value	گروه‌های آزمایشی*			بخش‌های روده
	۳	۲	۱	
۰/۳۵۴۲	۵/۴۴ $\pm$ ۰/۲۲	۵/۲۰ $\pm$ ۰/۱۵	۵/۲۴ $\pm$ ۰/۴۳	دئودنوم
۰/۳۵۶۰	۶/۲۴ $\pm$ ۰/۲۴	۶/۱۵ $\pm$ ۰/۲۱	۶/۳۷ $\pm$ ۰/۳۱	ایلئوم

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دارند ( $P < 0.05$ ).

\* ۱- جیره بدون اسیدهای آلی (شاهد)، ۲- جیره شاهد همراه با مصرف روزانه اسیدهای آلی، ۳- جیره شاهد همراه با مصرف یک روز در میان اسیدهای آلی.

### بحث و نتیجه‌گیری

#### عملکرد رشد

در پژوهش حاضر با مصرف اسیدهای آلی، میزان خوراک مصرفی جوجه‌های گوشتی در مراحل آغازین و همچنین میانگین رشد آن‌ها از ۱۱ تا ۲۴ روزگی، نسبت به شاهد کاهش یافت و همچنین با اجرای برنامه مصرف یک‌روز در میان اسیدهای آلی طی ۱۰ روز اول زندگی میانگین مصرف خوراک و رشد نسبت به برنامه مصرف روزانه اسیدهای آلی نیز کاهش یافت. قبلاً نیز برخی از پژوهش‌گران با استفاده از مصرف اسید آلی نتیجه گرفتند که رشد کاهش یافت (Martinez et al., 2021). براساس گزارش

پژوهش‌گران، اگر اسیدهای آلی متناسب با شرایط بیولوژیک پرنده مصرف نشوند با کاهش بیش از حد اسیدیته کانال گوارش ممکن است سبب کاهش رشد شوند (Martinez et al., 2021). براساس یافته‌های برخی از محققین کاهش مصرف خوراک متأثر از افزودن اسیدهای آلی می‌تواند به دلیل افزایش جذب پروتئین در روده باشد (Kim et al., 2015). زیرا افزایش میزان آمینواسیدهای خون یکی از عوامل مؤثر روی کنترل میزان مصرف خوراک محسوب می‌باشند (Lamot et al., 2017). در این بررسی با استفاده از مصرف روزانه اسیدهای آلی طی مرحله تغذیه‌ای رشد، ضریب تبدیل خوراک نسبت به شاهد بهبود یافت. برخی از پژوهش‌گران کاهش اسیدیته خوراک، کانال گوارش و عضلات و همچنین اثر ضد میکروبی اسیدهای آلی را عامل مهمی برای بهبود عملکرد رشد متأثر از مصرف اسیدیفایر معرفی نمودند (Gao et al., 2021). ولی با بررسی نتایج آزمایش‌های پژوهش‌گران می‌توان وجود گزارش‌های متناقضی در رابطه با اثرات اسیدیفایرها روی عملکرد رشد را شاهد بود (Adhikari et al., 2020). در آزمایشی توسط پژوهش‌گران مصرف اسیدفرمیک تأثیری روی عملکرد جوجه‌های گوشتی نداشت (Abdollahi et al., 2020). در دیگر آزمایش‌های به‌عمل‌آمده توسط پژوهش‌گران اثرات اسیدهای آلی مختلف بر روی مصرف خوراک در سنین متفاوت زندگی جوجه‌های گوشتی مشابه نبود، زیرا مصرف اسیدسیتریک سبب

سبب کاهش انتروباکتریاسه در ایلئوم شد. قبلاً نیز پژوهش‌گران گزارش نمودند که هر اسید آلی توانایی خاص خود را در برابر باکتری‌های بیماری‌زا دارد (Melaku *et al.*, 2021). نتایج این بررسی تأییدکننده توانایی اسیدیفایر مورد آزمون در کاهش برخی پاتوژن‌های کانال گوارش و سلامت روده است.

#### مورفولوژی روده

مورفولوژی روده شاخصی مهم برای ارزیابی سلامت روده است. ارتفاع پرز و عمق کریپت به ترتیب شاخص اصلی عملکرد هضم و جذب خوراک و معرف میزان بلوغ سلول‌های بافت روده هستند (Zhang *et al.*, 2022). همچنین روده بخشی از سیستم ایمنی ذاتی پرند محسوب می‌شود و افزایش طول پرز روده موجب بهبود عملکرد روده، به‌عنوان یک مانع طبیعی در برابر باکتری‌های پاتوژن و مواد سمی موجود در کانال گوارش، می‌شود (Gao *et al.*, 2021). گزارش‌های موجود نشان می‌دهد که اسیدهای آلی و نمک‌های آن‌ها به‌واسطه کاهش جمعیت باکتری‌های پاتوژن و محدود نمودن فرآورده‌های متابولیکی سمی آن‌ها در کانال گوارش نقش مهمی در کارایی روده، وظایف ایمونولوژیک آن و بهبود عملکرد پرند دارند (Melaku *et al.*, 2021). با این وجود بررسی‌های مختلف در خصوص اثرات اسیدهای آلی روی مورفولوژی روده، نتایج متفاوتی را نشان می‌دهد. در پژوهش پژوهش‌گران مصرف جداگانه اسیدفرمیک و سیتریک تأثیری روی نسبت طول پرز به عمق کریپت دئودنوم نداشت، اما استفاده از اسیدهای لاکتیک و پروپیونیک سبب افزایش نسبت طول پرز به عمق کریپت شد و این پژوهش‌گران گزارش نمودند که اثر مخلوط‌های متفاوت از لحاظ نوع اسیدهای آلی روی نسبت طول پرز به عمق کریپت یکسان نیست (Ali *et al.*, 2020). برخی دیگر از پژوهش‌گران نیز طی بررسی‌های خود گزارش نمودند که اسیدیفایر تغییری در ارتفاع پرز و عمق کریپت دئودنوم ایجاد نکرد، اما

کاهش مصرف خوراک، ولی اسیداستیک موجب افزایش مصرف خوراک جوجه‌های گوشتی در هفته اول زندگی شد (Abdelrazek *et al.*, 2016). به‌طور کلی، اختلاف در شرایط بهداشتی پرورش، شرایط تغذیه‌ای و همچنین تفاوت نسبت هر یک از اسیدهای آلی در یک مکمل افزودنی، فرمولاسیون اسیدها، نحوه مصرف و سن مصرف اسیدهای آلی می‌توانند دلیلی برای وجود نتایج متفاوت طی استفاده از اسیدیفایرهای مختلف در آزمایش‌های پژوهش‌گران باشند (Abdollahi *et al.*, 2020; Emami *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2017).

#### جمعیت میکروبی ایلئوم

میکروبیوتای روده نقش مهمی در سلامتی حیوان و بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی دارد علاوه بر آن مطابق یک باور مهم، باکتری‌های پاتوژن موجود در کانال روده سبب آلودگی لاشه به هنگام کشتار جوجه‌های گوشتی می‌شوند که این اتفاق می‌تواند زمینه‌ساز بیماری انسان نیز شود (Jazi *et al.*, 2018). استفاده از اسیدیفایرها به‌عنوان یک استراتژی تغذیه‌ای برای کاهش پاتوژن‌های کانال گوارش معرفی شده است. برخی پژوهش‌گران گزارش نمودند که اسیدهای آلی با افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک نقش مهمی روی کاهش رشد و مرگ پاتوژن‌ها دارند (Jazi *et al.*, 2018; Adhikari *et al.*, 2020). بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده کوتاه‌مدت از اسید فرمیک ممکن است شمار سالمونلا را در روده کاهش دهد (Adhikari *et al.*, 2020). در بررسی‌های به‌عمل‌آمده توسط پژوهش‌گران استفاده از اسیدبوتیریک سبب کاهش کلی‌فرم‌ها و سالمونلا و همچنین افزایش لاکتوباسیل‌های سکوم شد، اما تأثیری روی شمار بیفیدوباکتریوم نداشت (Jazi *et al.*, 2018). در این بررسی اگرچه استفاده از اسیدهای آلی طی دو برنامه متفاوت تأثیری روی شمار کل باکتری‌های هوازی و لاکتوباسیل‌ها نداشت، اما

اسیدپروپیونیک و نمک‌های آلی آن‌ها، تغییری در اسیدیته سنگدان مشاهده نشد (Palamidi *et al.*, 2016). به‌طور کلی، وجود گزارش‌های با نتایج متفاوت از تأثیر اسیدهای آلی روی اسیدیته کانال گوارش می‌تواند ناشی از عوامل مختلفی باشد. براساس گزارش‌های موجود استفاده از اسیدیفایرها، pH نواحی ابتدایی کانال گوارش شامل چینه‌دان، سنگدان و پیش‌مده را بیش‌تر تحت تأثیر قرار می‌دهند (Kim *et al.*, 2015). تفاوت ارزش pKa اسیدهای آلی، میزان استفاده از اسیدیفایر هم‌چنین نوع خوراک از لحاظ ظرفیت بافری، حیوان و محل آزمایش نقش بسیار مهمی در این رابطه دارند (Gao *et al.*, 2021; Vinolya *et al.*, 2021).

به‌طور کلی، نتایج این بررسی نشان داد که افزودن مخلوط اسیدهای آلی شامل اسیدفرمیک، اسیدسیتریک، اسیدپروپیونیک، اسیداستیک به‌همراه نمک‌های آن‌ها اگرچه تأثیری در اسیدیته و مورفولوژی روده ندارد، اما سبب کاهش انتروباکتریاسه در ایلئوم و بهبود ضریب تبدیل خوراک در مرحله رشد جوجه‌های گوشتی می‌شود و هم‌چنین تغییر برنامه مصرف اسیدهای آلی روی بهبود ضریب تبدیل خوراک تأثیر دارد. پیشنهاد می‌شود اثرات اسیدهای آلی مورد آزمون در این بررسی، روی عملکرد زیستی دیگر حیوانات نیز مورد ارزیابی قرار گیرد.

در ژوژنوم سبب افزایش ارتفاع پرز و کاهش عمق کریپت شد (Elhassan *et al.*, 2019). در شرایط این بررسی طی برنامه‌های متفاوت مصرف اسیدهای آلی موردآزمون، شاخص‌های مورفولوژیک دئودنوم و ژوژنوم تغییری نکردند. پژوهش‌گران مقدار مصرف اسید آلی و نوع آن‌ها را عامل مهمی برای متأثر نمودن مورفولوژی روده گزارش نمودند (Melaku *et al.*, 2021).

### pH دئودنوم و ایلئوم

اسیدیته کانال گوارش بر فرایند هضم و جذب خوراک و تعادل فلور میکروبی آن تأثیرگذار است (Losada Medina *et al.*, 2020). برخی از پژوهش‌گران گزارش نموده‌اند اسیدیفایرها موجب کاهش pH کانال گوارش می‌شوند (Jazi *et al.*, 2018; Adhikari *et al.*, 2020). اما با این وجود در بررسی حاضر مصرف اسیدهای آلی تغییری در pH دئودنوم و ایلئوم ایجاد نکرد. در بررسی‌های برخی پژوهش‌گران استفاده از اسیدفسفریک و نیز اسیدلاکتیک اگرچه pH دئودنوم را کاهش دادند، اما تأثیری روی pH ایلئوم نداشتند و قابل توجه است که اسیدیته سنگدان با استفاده از اسیدفسفریک کاهش یافت (Gao *et al.*, 2021). ولی در بررسی‌های دیگر پژوهش‌گران با استفاده از مخلوط اسیدهای آلی شامل اسیدفرمیک، اسیداستیک و

## REFERENCES

- Abdelrazek, H.M.A.; Abuzead, S.M.M.; Ali S.A.; El-Genaidy H.M.A.; Abdel-Hafez S.A. (2016). Effect of citric and acetic acid water acidification on broiler's performance with respect to thyroid hormones levels. *Advances in Animal and Veterinary Science*; 4(5): 271-278.
- Abdollahi, M.R.; Zaefarian, F.; Hall L.; Jendza J.A. (2020). Feed acidification and steam-conditioning temperature influence nutrient utilization in broiler chickens fed wheat-based diets. *Poultry Science*; 99(10): 5037-5046.
- Adhikari, P.; Yadav, S.; Cosby, D.E.; Cox, N.A.; Jendza, J.A.; Kim, W.K. (2020). Research Note: Effect of organic acid mixture on growth performance and Salmonella Typhimurium colonization in broiler chickens. *Poultry Science*; 99(5): 2645-2649.
- Ali, A.M.; El Agrab, H.M.; Hamoud, M.M.; Gamal, A.M.; Mousa, M.R.; Nasr, S.A.E.; El, Shater, M.A.H.; Laban, S.E.; Zahran, O.K.; Ali, M.M. (2020). Effect of acidified drinking water by organic acids on broiler performance and gut health. *Advances in Animal and Veterinary Science*; 8(12): 1301-1309.



- Aliakbarpour, H.R.; Chamani, M.; Rahimi, G.; Sadeghi, A. A.; Qujeq, D. (2012). The Bacillus subtilis and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*; 25(9), 1285.
- Banaszak, M.; Biesek, J.; Bogucka, J.; Dankowiakowska, A.; Olszewski, D.; Bigorowski, B.; Adamski, M. (2020). Impact of aluminosilicates on productivity, carcass traits, meat quality, and jejunum morphology of broiler chickens. *Poultry Science*; 99(12), 7169-7177.
- Elhassan, M.M.O.; Ali, A.M.; Blanch, A.; Kehlet, A.B.; Madekurozwa, M.C. (2019). Morphological responses of the small intestine of broiler chicks to dietary supplementation with a probiotic, acidifiers, and their combination. *Journal of Applied Poultry Research*; 28(1): 108-117.
- Emami, N. K.; Daneshmand, A.; Naeni, S. Z.; Graystone, E. N.; Broom, L. J. (2017). Effects of commercial organic acid blends on male broilers challenged with E. coli K88: Performance, microbiology, intestinal morphology, and immune response. *Poultry science*; 96(9), 3254-3263.
- Farhangian, Z.; Reaz Shahbazi, H.; Mohammadi, F. (2021). Effect of Different Levels of Sumac (*Rhus coriaria* L.) Powder on Performance, Development of Gastrointestinal Tract, Immune System and Blood Factors of Broiler Chickens. *Journal of Animal Biology*; 14(2), 173-184.
- Garcia, L.S.; Isenberg, H.D. (2007). Aerobic bacteriology: *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington, DC.; 3, p.3.9.3.13
- Gao, C.Q.; Shi, H.Q.; Xie, W.Y.; Zhao, L.H.; Zhang, J.Y.; Ji, C.; Ma, Q.G. (2021). Dietary supplementation with acidifiers improves the growth performance, meat quality and intestinal health of broiler chickens. *Animal Nutrition*; 7(3): 762-769.
- Greene, G.; Koolman, L.; Whyte, P.; Lynch, H.; Coffey, A.; Lucey B.; Egan, J.; O'Connor, L.; Bolton, D. (2022). The efficacy of organic acid, medium chain fatty acid and essential oil based broiler treatments; in vitro anti-Campylobacter jejuni activity and the effect of these chemical-based treatments on broiler performance. *Journal of Applied Microbiology*; 132(1): 687-695.
- Jazi, V.; Foroozandeh, A.D.; Toghyani, M.; Dastar, B.; Koochaksaraie, R.R. (2018). Effects of Pediococcus acidilactici, mannan-oligosaccharide, butyric acid and their combination on growth performance and intestinal health in young broiler chickens challenged with Salmonella Typhimurium. *Poultry science*; 97(6): 2034-2043.
- Kim, J.W.; Kim, J.H.; Kil, D.Y. (2015). Dietary organic acids for broiler chickens: a review. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*; 28(2): 109-123.
- Lamot, D.M., Sapkota, D.; Wijtten, P. J. A.; van den Anker, I., Heetkamp, M. J. W.; Kemp, B.; van den Brand, H. (2017). Diet density during the first week of life: Effects on energy and nitrogen balance characteristics of broiler chickens. *Poultry science*; 96(7): 2294-2300.
- Losada-Medina, D.; Yitbarek, A.; Nazeer, N.; Uribe-Diaz, S.; Ahmed, M.; Rodriguez-Lecompte, J.C. (2020). Identification, tissue characterization, and innate immune role of Angiogenin-4 expression in young broiler chickens. *Poultry Science*; 99(6): 2992-3000.
- Martínez, Y.; Gonzalez, A.; Botello, A.; Perez, K. (2021). Effect of a combination of propionic-acetic acid on body weight, relative weight of some organs, lactic acid bacteria and intestinal pH of neonatal broilers. *Braz. J. Poult. Sci.*; 23: 1-8
- Melaku, M.; Zhong, R.; Han, H.; Wan, F.; Yi, B.; Zhang, H. (2021). Butyric and Citric Acids and Their Salts in Poultry Nutrition: Effects on Gut Health and Intestinal Microbiota. *International Journal of Molecular Science*; 22(19). 10392.

- Palamidi, I.; Paraskeuas, V.; Theodorou, G.; Breitsma, R.; Schatzmayr, G.; Theodoropoulos, G.; Fegeros, K.; Mountzouris, K.C. (2016). Effects of dietary acidifier supplementation on broiler growth performance, digestive and immune function indices. *Animal Production Science*; 57(2): 271-281.
- Roofchaei, A.; Rezaei, V.; Vatandour, S.; Zaefarian, F. (2019). Influence of dietary carbohydrases, individually or in combination with phytase or an acidifier, on performance, gut morphology and microbial population in broiler chickens fed a wheat-based diet. *Animal Nutrition*; 5(1): 63-67.
- Swaggerty, C.L.; Byrd, J.A.; Arsenault, R.J.; Perry, F.; Johnson, C.N.; Genovese, K.J.; He, H.; Kogut, M.H.; Piva, A.; Grilli, E. (2022). A blend of microencapsulated organic acids and botanicals reduces necrotic enteritis via specific signaling pathways in broilers. *Poultry Science*; 101(4): 101753.
- Vinolya, R.E.; Balakrishnan, U.; Yasir, B.; Chandrasekar, S. (2021). Effect of dietary supplementation of acidifiers and essential oils on growth performance and intestinal health of broiler. *Jouranl of Applied Poultry Research*; 30(3): 100179.
- Zhang, S.; Chunling, Z.H.U.; Hongbing, X.I.E.; Lriong, W.A.N.G.; Jianhe, H.U. (2022). Effect of Gan Cao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) polysaccharide on Growth Performance, Immune Function, and Gut microflora of Broiler Chickens. *Poultry Science*; 102068.