

مطالعه اثر مکمل سازی اسید سیتریک و آنزیم فیتاز بر عملکرد، چربی خون، سیستم ایمنی و برخی ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی

نسبیه محمدباقری^{۱*} - رامین نجفی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱/۱۸

چکیده

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر مکمل سازی اسید سیتریک و آنزیم فیتاز بر عملکرد، چربی خون، سیستم ایمنی و برخی ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی انجام شد. برای این منظور تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه گوشتی نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ در یک آزمایش فاکتوریل ۲×۲ در قالب طرح کاملاً تصادفی، با چهار تیمار آزمایشی، پنج تکرار و ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار تا ۴۲ روزگی پرورش داده شدند. جیره‌های آزمایشی حاوی اسید سیتریک (صفر و ۱ درصد) و آنزیم فیتاز (صفر و ۵۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) بودند. تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده نشان دادند که افزودن اسید سیتریک منجر به کاهش معنی‌دار مصرف خوراک در دوره رشد و کل دوره گردید. در حالی که آنزیم فیتاز تأثیر کاهشی نداشت. میانگین افزایش وزن و ضریب تبدیل خوراک تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. اسید سیتریک به تنهایی یا به همراه آنزیم فیتاز غلظت کلسترول و LDL سرم را کاهش داد و نیز سطوح HDL و VLDL سرم در تیمار اسید سیتریک افزایش معنی‌داری نشان دادند، ولی تغییر معنی‌داری در سطح تری‌گلیسرید سرم در اثر استفاده از اسید سیتریک مشاهده نشد. بر خلاف آنزیم فیتاز که مقدار چربی محوطه بطنی را افزایش داد، اسید سیتریک سبب کاهش معنی‌داری در مقدار چربی محوطه بطنی گردید. از نظر تأثیر بر سیستم ایمنی بدن، آنزیم فیتاز و استفاده همزمان اسید سیتریک و آنزیم فیتاز موجب افزایش معنی‌دار وزن بورس فابریسیوس شدند. وزن نسبی تیموس، طحال، مقدار آنتی بادی بر علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل، وزن نسبی سینه، ران‌ها، بال‌ها و درصد بازده لاشه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند. افزودن اسید سیتریک به جیره‌های حاوی آنزیم فیتاز سبب کاهش چربی‌های مضر خون و تا حدودی بهبود صفات لاشه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی گردید. لذا نتایج نشان می‌دهند که احتمالاً اسید سیتریک دارای اثر همگوشی بر بازدهی آنزیم فیتاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: جوجه‌های گوشتی، چربی خون، اسید سیتریک، فیتاز، سیستم ایمنی.

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌های غیردرمانی به وجود آمده است. از مهم‌ترین علل این نگرانی‌ها ایجاد مقاومت باکتری‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک‌ها و ایجاد گونه‌های بیماری‌زای پایدار است. نگرانی‌های اخیر در رابطه با مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سطح وسیعی باعث ممنوعیت مصرف آنتی‌بیوتیک‌های غیر درمانی در حیوانات، از جمله طیور گوشتی از طرف اتحادیه اروپا و ایالات متحده شده است (۱۲). انتخاب مواد افزودنی جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها بر اساس تحریک رشد باکتری‌های مفید و به حداقل رساندن فعالیت‌های میکروبی دستگاه گوارش می‌باشد. این کار شامل یافتن ترکیبات مانع کننده رشد باکتری-هاست (۲۵). از جمله مواد گوناگونی که به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد معرفی شده‌اند می‌توان به پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، گیاهان دارویی و اسانس‌های ضروری آن‌ها اشاره کرد (۲۶). طی چند دهه اخیر استفاده از اسیدهای آلی در جیره یا آب آشامیدنی طیور به منظور تهیه مواد خوراکی با کیفیت بالا

آنتی‌بیوتیک‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی هستند که به صورت بیولوژیکی توسط گیاهان یا میکروارگانیسم‌های معینی (معمولاً قارچ-ها) تولید می‌شوند و خاصیت توقف رشد باکتری یا باکتری‌کشی دارند (۳۱). استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای حفظ جمعیت میکروبی روده و کاهش رشد برخی از باکتری‌های بیماری‌زا مطلوب به نظر می‌رسد، همچنین این مواد رشد و ضریب تبدیل خوراک را بهبود می‌بخشند (۳۱ و ۱۷). با وجود تمام ویژگی‌های مثبت آنتی‌بیوتیک‌ها، طی چند دهه اخیر به علل مختلف نگرانی‌های زیادی در مورد تغذیه

۱- کارشناسی ارشد تغذیه دام و طیور گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه،

۲- استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه.

*- نویسنده مسئول (Email: n.mohammadbagheri@gmail.com)

آن و نقش اسید سیتریک به عنوان اسید آلی در کاهش مشکلات روده‌ای و نیز نقش آنزیم فیتاز در آزاد شدن فسفر فیتانه و وجود فرضیه بهبود اثر فیتاز با مکمل‌سازی جیره با اسید سیتریک، آزمایش حاضر به منظور بررسی اثر اسید سیتریک و مکمل فیتاز و اثر متقابل آنها بر عملکرد، چربی‌های خون، پاسخ ایمنی و خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

آزمایش حاضر در مزرعه تحقیقاتی طیور گروه علوم دامی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. برای انجام مطالعه حاضر تعداد ۲۴۰ قطعه جوجه نر یک روزه سویه راس ۳۰۸ از کارخانه جوجه کشی محلی تهیه گردید و در آزمایش فاکتوریل ۲×۲ با دو سطح اسید سیتریک (۰ و ۱ درصد) و دو سطح آنزیم فیتاز (۰ و ۵۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار آزمایشی، پنج تکرار و تعداد ۱۲ قطعه جوجه در هر تکرار تقسیم شده و تا ۴۲ روزگی پرورش داده شدند. در هر یک از واحدهای آزمایشی از آبجوی نیبل و دانخوری تراف استفاده شد و از تراشه‌های چوب به عنوان بستر استفاده گردید. دمای سالن در روز اول پرورش ۳۲ درجه سانتی‌گراد بود، سپس به تدریج کاهش یافت تا اینکه در ۴۲ روزگی به ۲۱ درجه سانتی‌گراد رسید. برنامه نوردهی در روز اول به صورت ۲۳ ساعت روشنایی بود و بعد از آن تا انتهای دوره به صورت ۲۳ ساعت روشنایی و یک ساعت تاریکی در شبانه روز تثبیت گردید. رطوبت نسبی سالن بین ۵۰ تا ۶۰ درصد متغیر بود. جوجه‌ها از صفر تا ۱۰ روزگی جیره آغازین، از ۱۱ تا ۲۴ روزگی جیره رشد و از ۲۵ تا ۴۲ روزگی جیره نهایی را بر اساس توصیه‌های راهنمای پرورش راس ۳۰۸ دریافت نمودند. اسید سیتریک استفاده شده در جیره‌های آزمایشی به شکل مونوهیدراته و فیتاز مورد استفاده با نام تجاری ناتافوس محصولی از میکروارگانیزم اسپرژیلوس نیچر بود که یک گرم از آن حاوی حداقل ۱۰۰۰۰ واحد فعال آنزیم (FTU) می‌باشد. میزان مصرف آنزیم مطابق با دوز پیشنهادی شرکت سازنده در نظر گرفته شد (۲۰۰ گرم آنزیم فیتاز در یک تن جیره). در طول دوره پرورش تمام گروه‌ها جیره‌های یکسانی بر پایه گندم-ذرت-سویا دریافت نمودند. در طول دوره آزمایش دسترسی به آب و خوراک آزاد بود. تیمارهای آزمایشی به ترتیب شامل: ۱- جیره شاهد (گندم-ذرت-سویا)، ۲- جیره شاهد+ یک درصد اسیدسیتریک، ۳- جیره شاهد+ آنزیم فیتاز، ۴- جیره شاهد+ یک درصد اسیدسیتریک+ آنزیم فیتاز بودند. برای تحریک سیستم ایمنی به منظور سنتز آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن ویروس نیوکاسل جهت ارزیابی تأثیر تیمارهای مختلف بر ایمنی هومورال پرندگان، تمام جوجه‌های مورد آزمایش در روزهای یازدهم و بیست و سوم با استفاده از واکسن لاسوتا (واکسن زنده

و تا حد امکان عاری از میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا) وجود ارتباط نزدیک بین تغذیه و سلامت تولیدات دامی و سلامت انسان‌ها) مرسوم شده است (۱۶). اسیدهای آلی به عنوان نگهدارنده خوراک و محرک رشد استفاده می‌شوند. همچنین آلودگی‌های باکتریایی خوراک پرند را کاهش داده و برای حفاظت از خوراک مفید می‌باشند و از کلونی شدن میکروب‌های بیماری‌زا و تولید متابولیت‌های سمی جلوگیری می‌کنند به این ترتیب باعث بهبود هضم پروتئین و بهبود قابلیت دسترسی به کلسیم، فسفر، منیزیم و روی می‌شوند (۲۰). از دیگر وظایف اسیدهای آلی کاهش عفونت‌های تحت بالینی در طیور، مساعد نگه‌داشتن pH معده و فعالیت بهتر آنزیم‌های تجزیه کننده، تحریک مصرف خوراک از طریق خوش‌خوراک نمودن آن، کاهش تولید آمونیاک و سایر متابولیت‌های میکروبی کاهش دهنده رشد و افزایش قابلیت هضم و جذب پروتئین و انرژی به واسطه کاهش رقابت‌های میکروبی با میزبان برای مواد غذایی می‌باشد (۴۰). یکی از موضوعات مهم در جیره اسیدی شده، مهار رقابت باکتری‌های روده با میزبان به منظور دسترسی به مواد غذایی قابل دسترس و کاهش متابولیت‌های سمی باکتری‌ها مانند آمونیاک و آمین‌هاست، به این ترتیب وزن حیوان میزبان به‌ویژه در سنین اولیه افزایش می‌یابد (۳). از کل فسفر مواد دانه‌ای استفاده شده در جیره‌های طیور ۵۰ تا ۸۰ درصد آن فسفر فیتاته است که قابلیت دسترسی آن برای طیور اندک می‌باشد. فیتات با ایجاد پیوند با مواد معدنی (بویژه فسفر)، بعضی از انواع پروتئین و نشاسته آنها را از دسترس حیوان تک معده‌ای خارج می‌کند. سیمونز و همکاران (۳۶) گزارش کردند که آنزیم فیتاز بیشترین فعالیت را در محدوده pH ۲/۵ تا ۵/۵ دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که اسیدیته دستگاه گوارش طیور برای تجزیه کامل یا قابل قبول فیتات توسط فیتاز مطلوب نیست، اسید سیتریک از طریق تشکیل کیلات با کاتیون‌های چند ظرفیتی مانند کلسیم که فرم غیرقابل حل آن با اسید فیتیک است، منجر به بهبود اثر فیتاز می‌شود و بدین ترتیب قابلیت حل اسید فیتیک افزایش می‌یابد (۹). به علاوه اسیدهای آلی از جمله اسید سیتریک از طریق کاهش pH مواد هضمی سبب افزایش جدا شدن مواد معدنی از اسید فیتیک می‌گردند که این امر در نهایت موجب افزایش فعالیت آنزیم فیتاز می‌شود (۳۶). همچنین تحت شرایط pH پایین، حضور یون‌های هیدروژن سبب خنثی شدن بیشتر گروه‌های منفی فسفات در فیتات می‌شود. وقتی گروه‌های منفی خنثی و بدون بار شدند، گروه‌های فسفات تمایل به جذب یا تشکیل کیلات با یون‌های مثبتی چون کلسیم یا دیگر ترکیبات خوراکی مانند اسیدهای آمینه نخواهند داشت در این حالت مولکول فیتات به فیتاز حساس شده و می‌شکند (۲۴). گندم به‌عنوان جایگزین مناسب برای ذرت در جیره جوجه‌های گوشتی محسوب می‌شود (۱۸). به دلیل استفاده از گندم و وجود پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای که سبب افزایش مشکلات روده‌ای می‌شوند و وجود فسفر به شکل فیتات در

گلیسرید، HDL، LDL و VLDL نمونه‌های سرم، مطابق دستورالعمل کیت‌های زیست‌شیمی با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Unica 12, Japan) به روش نورسنجی اندازه‌گیری شدند. جهت تعیین مقدار آنتی بادی علیه آنتی ژن ویروس نیوکاسل از تست مهار آگلوتیناسیون (HI) استفاده گردید (۳۷). همچنین در روز کشتار اندام‌های لنفوییدی (بوس فابریسیوس، تیموس و طحال) برای بررسی وضعیت ایمنی با دقت جداسازی و توزین شدند. شاخص کارایی تولید در پایان دوره با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید: (ضریب تبدیل خوراک × تعداد روزهای پرورش) / (۱/۱ × درصد زنده‌مانی × میانگین وزن زنده) = شاخص کارایی تولید (۱۱)

تجزیه آماری

نتایج بدست آمده از این آزمایش با استفاده از یک مدل آماری که در برگیرنده اثر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل بین آن‌ها بود با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (۳۴) و رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. میانگین صفات مورد مطالعه در صورت معنی‌دار بودن با آزمون توکی و در سطح احتمال ۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

بیماری نیوکاسل) به روش قطره چشمی واکسینه شدند. برای بررسی عملکرد پرندگان، میانگین مصرف خوراک و میانگین افزایش وزن بدن به طور هفتگی در طول دوره آزمایش اندازه‌گیری گردیده و ضریب تبدیل خوراک محاسبه شد. با هدف تسهیل ارزیابی تأثیر تیمارهای مختلف در سه هفته اول و سه هفته دوم پرورش به طور جداگانه مقادیر افزایش وزن، مصرف خوراک و نیز ضریب تبدیل خوراک در دوره های ۰-۲۱ و ۲۲-۴۲ محاسبه گردید و نیز برای ارزیابی کلی، شاخص‌های عملکردی ۰-۴۲ روزگی بر اساس سرانه پرنده با در نظر گرفتن تلفات محاسبه گردید و نتایج به دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. در روز ۴۲ پرورش تعداد یک پرنده از هر تکرار به طور تصادفی انتخاب و به روش انسانی کشتار شدند تا خصوصیات لاشه همچون وزن لاشه، وزن سینه، وزن ران و وزن چربی محوطه بطنی تعیین گردد. جهت تهیه نمونه‌های سرم از تعداد سه پرنده از هر تکرار در روز ۴۲ پرورش خون‌گیری انجام شد و با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ده دقیقه سرم نمونه‌ها (۱۱) جداسازی گردید، نمونه های سرم تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به صورت فریز نگهداری شدند. جهت ارزیابی چربی خون مقادیر کلسترول، تری-

جدول شماره ۱- اجزای تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره های غذایی (بر حسب درصد)

اجزای تشکیل دهنده جیره	جیره آغازین (۰-۱۰ روزگی)	جیره رشد (۱۱-۲۴ روزگی)	جیره پایانی (۲۵-۴۲ روزگی)
ذرت	۴۱/۹۰	۴۲/۴۹	۴۰
گندم	۱۴/۰۶	۲۰	۲۵
کنجاله سویا	۳۷/۵	۳۱/۲۰	۲۸/۱۵
روغن سویا	۲/۲	۲/۵۰	۳/۲
سنگ آهک	۱	۰/۸	۰/۸
دی کلسیم فسفات	۲/۲	۲	۱/۸
دی ال - متیونین	۰/۱۸	۰/۱۵	۰/۱۵
لیزین هیدروکلراید	۰/۱۶	۰/۰۶	۰/۱
مکمل ویتامینی و معدنی ^۱	۰/۵	۰/۵۰	۰/۵
نمک	۰/۳	۰/۳۰	۰/۳
ترکیبات محاسبه شده			
انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۸۶۰	۲۹۵۰	۳۰۲۰
پروتئین خام	۲۱/۲۳	۱۹/۰۵	۱۸
کلسیم	۰/۹۶	۰/۸۴	۰/۷۹
فسفر قابل دسترس	۰/۴۷	۰/۴۳	۰/۳۹
متیونین	۰/۴۹	۰/۴۴	۰/۴۲
لیزین	۱/۲۸	۱/۰۶	۱/۰۲

۱) مقادیر ویتامین‌ها در هر کیلوگرم جیره: ۹۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۲۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D_۳، ۱۸ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۲ میلی‌گرم ویتامین K_۳، ۱/۸ میلی‌گرم تیامین، ۶/۶ میلی‌گرم ربیوفلاوین، ۳۰ میلی‌گرم نیاسین، ۳ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۱ میلی‌گرم اسید فولیک، ۱۵ میلی‌گرم ویتامین B_{۱۲}، ۰/۱ میلی‌گرم بیوتین، ۵۰۰ میلی‌گرم کولین کلراید، ۱۰۰ میلی‌گرم اتوکسی کوئین. و مکمل معدنی در هر کیلوگرم جیره: ۱۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۵۰ میلی‌گرم آهن، ۸۵ میلی‌گرم روی، ۱۰ میلی‌گرم مس، ۱ میلی‌گرم ید، ۰/۲ میلی‌گرم سلنیوم، ۱۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان.

همچنین $y = \arcsin \sqrt{y}$ برای تبدیل داده‌هایی که به صورت نسبت یا درصد بیان می‌شوند، استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آن‌ها بر عملکرد و شاخص کارایی تولید جوجه‌های گوشتی در جدول شماره ۲ ارائه شده است. نتایج به دست آمده نشان دادند که اسید سیتریک در دوره پایانی و کل دوره منجر به کاهش معنی‌دار میانگین مصرف خوراک شد ($P < 0.05$) به طوری که تیمارهای حاوی اسید سیتریک نسبت به تیمارهای فاقد آن در دوره های مذکور مصرف خوراک کمتری داشتند. در حالی که آنزیم فیتاز تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت ($P > 0.05$). میانگین افزایش وزن، ضریب تبدیل خوراک و شاخص کارایی تولید تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$).

ابراهیم‌نژاد و همکاران (۱۳) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی (۳-۱/۵٪) یا نمک‌های آن‌ها با کاهش pH معده موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک شده و مدت زمان ماندگاری خوراک در معده و دستگاه گوارش را افزایش می‌دهند. نتیجه اینکه، زمان بیشتری جهت هضم خوراک فراهم می‌گردد. تخلیه کندتر دستگاه گوارش باعث هضم بهتر خوراک شده و نیازمندی‌های حیوان به طور مناسب‌تری تأمین می‌شود که نتیجه آن کاهش مصرف خوراک است. برنس و همکاران (۱۰) گزارش کردند که استفاده از ۲۰ گرم بر کیلوگرم اسید سیتریک منجر به کاهش معنی‌دار مصرف خوراک گردید. در آزمایشی عبدالفتاح و همکاران (۴) گزارش کردند که افزودن اسید سیتریک به جیره جوجه‌های گوشتی باعث بهبود افزایش وزن بدن و افزایش مصرف خوراک و بهبود بازده غذایی می‌شود.

جدول ۲- تأثیر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن‌ها بر عملکرد جوجه‌های گوشتی^۱

PI*	ضریب تبدیل خوراک			افزایش وزن بدن (گرم)			مصرف خوراک (گرم)			اثرات اصلی
	کل (۰-۴۲)	پایانی (۲۲-۴۲)	رشد (۰-۲۱)	کل (۰-۴۲)	پایانی (۲۲-۴۲)	رشد (۰-۲۱)	کل (۰-۴۲)	پایانی (۲۲-۴۲)	رشد (۰-۲۱)	
	اسید سیتریک (%)									
۲۸۰	۱/۹۵	۲/۱۷	۱/۴۱	۲۴۵۵	۱۷۳۰	۷۲۴	۴۷۷۵ ^a	۳۷۴۳ ^a	۱۰۲۱	A1
۲۹۱	۱/۹۲	۲/۱۴	۱/۳۸	۲۴۲۴	۱۷۴۰	۷۲۴	۴۵۶۶ ^b	۳۵۸۴ ^b	۹۹۷	A2
۰/۶	۰/۵	۰/۶	۰/۰۹	۰/۶	۰/۱	۰/۵	۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۶	P value
۴/۶	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۴۲	۳۰	۵	۴۶	۴۲	۱۰	SE
	فیتاز (FTU)									
۲۸۲	۱/۹۴	۲/۱۷	۱/۴۱	۲۴۶۱	۱۷۵۶	۷۱۷	۴۷۲۱	۳۷۰۰	۱۰۱۷	B1
۲۸۹	۱/۹۴	۲/۱۴	۱/۳۸	۲۴۱۸	۱۷۱۴	۷۳۱	۴۶۲۵	۳۶۲۷	۱۰۰۱	B2
۰/۴	۰/۴	۰/۶	۰/۰۹	۰/۵	۰/۷	۰/۳	۰/۲۲	۰/۳۳	۰/۳۹	P value
۴/۶	۰/۰۳	۰/۰۳	۰/۰۱	۴۲	۳۰	۵	۴۶	۴۲	۱۰	SE
	اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)									
۲۷۵	۱/۹۸	۲/۲۰	۱/۴۳	۲۴۴۵	۱۷۷۱	۷۱۶	۴۸۳۵	۳۷۹۷	۱۰۳۸	B ₁ × A ₁
۲۸۵	۱/۹۳	۲/۱۴	۱/۳۹	۲۴۴۵	۱۷۵۸	۷۳۲	۴۶۸۵	۳۷۱۸	۱۰۰۷	B ₂ × A ₁
۲۸۹	۱/۹۰	۲/۱۴	۱/۳۹	۲۴۵۷	۱۷۱۰	۷۱۸	۴۵۸۸	۳۶۱۳	۹۹۰	B ₁ × A ₂
۲۹۲	۱/۹۵	۲/۱۵	۱/۳۷	۲۳۷۱	۱۶۸۳	۷۲۹	۴۵۴۵	۳۵۶۶	۹۹۷	B ₂ × A ₂
۰/۸	۰/۲۶	۰/۵۱	۰/۵۶	۰/۵	۰/۸۹	۰/۵۸	۰/۵۱	۰/۸۰	۰/۱۹	P value
۶/۵	۰/۰۴	۰/۰۵	۰/۰۱۷	۶۳	۵۲	۷	۷۴	۶۴	۱۴	SE

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

۱) اسید سیتریک در مقادیر (۰ و ۱ درصد) به شکل مونوهیدراته و آنزیم فیتاز هم با نام تجاری ناتافوس محصولی از میکروارگانیزم اسپرزیلوس نیچر در مقادیر (۰ و ۵۰۰ واحد فعال آنزیم در هر کیلوگرم از جیره) و مطابق با دوز پیشنهادی شرکت سازنده (۲۰۰ گرم آنزیم فیتاز در یک تن جیره)، بصورت سرک در جیره استفاده شدند.

* شاخص کارایی تولید

A1 و A2: اسید سیتریک صفر و یک درصد

B1 و B2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

مضر در سرم پرندگان تغذیه شده با جیره های حاوی آن ها گردید ($P < 0.05$). مکمل نمودن جیره با اسیدهای آلی با تولید آنزیم های تجزیه کننده نمک های صفراوی و غیرمزدوج ساختن آنها و همچنین از طریق کاهش pH مجرای روده به واسطه فعالیت باکتری های اسید لاکتیکی منجر به کاهش غلظت کلسترول می شود. حلالیت اسیدهای صفراوی غیرمزدوج در pH پایین کاهش می یابد در نتیجه از روده کمتر جذب شده و بیشتر در مدفوع ترشح می شوند (۲۳) در این شرایط کبد برای برقراری مجدد چرخه کبدی اسیدهای صفراوی، قسمت بیشتری از کلسترول را به صفرا تبدیل می کند و بنابراین از غلظت کلسترول در بافت ها و خون کاسته می شود (۳۲). همچنین طاهرپور و همکاران (۳۸) گزارش کردند که کاهش کلسترول خون در اثر استفاده از اسیدهای آلی به دلیل استفاده مستقیم آن توسط باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک است. این باکتری ها با تبدیل کلسترول به ترکیب غیرقابل جذب کوپرستانول باعث ایجاد اختلال در بازجذب کلسترول از روده می شوند. کاهش میزان کلسترول سرم در اثر استفاده از سطوح اسید سیتریک توسط عبدالفتاح و همکاران (۴) نیز گزارش شد.

نژد و همکاران (۲۸) گزارش کردند که استفاده از اسیدسیتریک در جیره جوجه های گوشتی تأثیری بر میانگین خوراک مصرفی نداشت. در حالی که آندریز و همکاران (۷) و افشارمنش و همکاران (۶) گزارش کردند که استفاده از اسید سیتریک منجر به بهبود بازده غذایی و مصرف خوراک در جوجه های گوشتی می گردد. نتایج مربوط به تأثیر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن ها بر چربی های خون جوجه های گوشتی در جدول ۳ گزارش شده است. بررسی ها نشان دادند که اسید سیتریک غلظت کلسترول و LDL سرم را به صورت معنی داری کاهش داد ($P < 0.05$). همچنین سطح HDL و VLDL سرم پرنده های تغذیه شده با جیره های حاوی اسید سیتریک به صورت معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). اسید سیتریک تأثیر معنی داری بر سطح تری گلیسرید سرم نداشت ($P > 0.05$). اثر اصلی آنزیم فیتاز منجر به کاهش سطح کلسترول، تری گلیسرید، HDL، LDL و سطح VLDL سرم خونی گردید، ولی هیچکدام از این نتایج از لحاظ آماری معنی دار نبودند ($P > 0.05$). در حالی که افزودن اسید سیتریک به جیره های حاوی آنزیم فیتاز منجر به کاهش سطح LDL سرم شد ($P < 0.05$). نتایج در مورد نسبت HDL به کلسترول حاکی از آن است که افزودن اسید سیتریک به تنهایی یا به همراه آنزیم فیتاز در جیره منجر به کاهش چربی های

جدول ۳- اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن ها بر چربی های خون جوجه های گوشتی در ۴۲ روزگی (بر حسب mg/dl)

HDL/Chol	VLDL	LDL	HDL	تری گلیسرید	کلسترول	اثرات اصلی
اسید سیتریک (%)						
۰/۵۳ ^b	۵/۶ ^b	۵۶ ^a	۶۲ ^b	۲۸	۱۲۴ ^a	A1
۰/۶۱ ^a	۶/۳ ^a	۳۶ ^b	۶۳ ^a	۳۰	۱۰۹ ^b	A2
۰/۰۳	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۸	۰/۰۴	P value
۰/۰۱	۰/۱۱	۳	۱/۲	۰/۶	۳	SE
فیتاز (FTU)						
۰/۵۶	۶	۴۷	۶۶	۳۰	۱۱۹	B1
۰/۵۸	۵/۸	۴۵	۶۳	۲۸	۱۱۴	B2
۰/۳	۰/۱	۰/۷	۰/۱	۰/۴	۰/۳	P value
۰/۰۱	۰/۱۱	۳	۱/۲	۰/۶	۳	SE
اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)						
۰/۵۶ ^b	۷/۳ ^a	۴۹ ^a	۶۶ ^{ab}	۳۷ ^a	۱۲۲	B ₁ × A ₁
۰/۵۰ ^b	۴ ^c	۵۱ ^a	۵۹ ^b	۲۰ ^b	۱۲۶	B ₂ × A ₁
۰/۵۶ ^b	۴/۷ ^b	۴۵ ^{ab}	۶۳ ^a	۲۳ ^b	۱۱۶	B ₁ × A ₂
۰/۶۷ ^a	۷/۵ ^a	۲۷ ^b	۶۸ ^a	۳۷ ^a	۱۰۳	B ₂ × A ₂
۰/۰۴۲	۰/۰۲۳	۰/۰۳۴	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۱۲	P value
۰/۰۲	۰/۱۶	۵	۱/۸	۰/۹	۵	SE

میانگین های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می باشند ($P < 0.05$).

A1 و A2: اسید سیتریک صفر و یک درصد

B1 و B2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

دستگاه گوارش و جذب بهتر آن‌ها از جمله اسیدهای چرب، منجر به افزایش سطح HDL سرم خونی جوجه‌های گوشتی نسبت به گروه شاهد شدند.

تأثیر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن‌ها بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل داده‌های آماری نشان دادند که استفاده از آنزیم فیتاز و ترکیب آن با اسید سیتریک منجر به افزایش وزن نسبی بورس فابریسیوس شد ($P < 0.05$). در مطالعه حاضر اسید سیتریک منجر به افزایش وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی گردید، ولی این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). وزن نسبی تیموس، طحال و تیتر آنتی‌بادی تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$). طحال، بورس و تیموس به عنوان بخشی از سیستم ایمنی قابل توجه‌اند. وزن بورس فابریسیوس و تیموس به عنوان شاخصی از سیستم ایمنی در پژوهش‌های علمی مورد توجه می‌باشد. این اعضاء مسئول تولید سلول‌هایی برای محافظت پرندگان در برابر میکروارگانیزم‌های مهاجم می‌باشند که در این رابطه کتابف و همکاران (۲۱) گزارش کردند افزایش وزن نسبی اندام‌های لنفوئیدی به عنوان نشانه‌ای از پیشرفت سیستم ایمنی است.

ضیایی و همکاران (۲) گزارش کردند که احتمالاً اسیدهای آلی از طریق افزایش فعالیت آنزیم کلسترول آلفا ۷- هیدروکسیلاز و تحریک ترشح اسیدهای صفراوی، کلسترول خون را کاهش می‌دهند. نورمحمدی و همکاران (۲۹) هم گزارش کردند که استفاده از اسید سیتریک منجر به کاهش معنی‌دار سطح کلسترول و LDL و نیز افزایش میزان HDL سرم شد، ولی تأثیری روی میزان تری-گلیسرید سرم نداشت. دلیل احتمالی کاهش غلظت LDL خون جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با اسیدهای آلی را می‌توان به موارد ذیل نسبت داد: ۱- کاهش در سنتز کبدی کلسترول بواسطه کاهش در فعالیت آنزیم ۳-هیدروکسی-۳-متیل گلو تاریل کوآنزیم-آ ردوکتاز و رابطه مستقیمی که این آنزیم با تولید کلسترول لیپوپروتئین با چگالی پایین دارد (۱۴)، ۲- اثرات این ترکیبات در کاهش فعالیت آنزیم‌های لیپوژنز و تولید تری‌اسیل گلیسرول‌ها (۳۳) و ۳- مکانیسم‌های تنظیم درون سلولی کلسترول (۳۵). کاهش تری-گلیسرید در اثر استفاده از جایگزین‌های رشد ممکن است به علت کاهش در جذب لیپید یا کاتابولیسم بالای لیپید و یا کاهش فعالیت آنزیم استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز و در نتیجه کاهش واکنش‌های استریفیکاسیون و بنابراین کاهش سنتز تری‌گلیسرید باشد (۳۳). در تحقیقی حاجاتی و همکاران (۱۹) گزارش کردند که آنزیم‌ها از طریق افزایش قابلیت هضم مواد مغذی، کاهش ویسکوزیته مواد هضمی در

جدول ۴- تأثیر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن‌ها بر سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

تیمار	وزن بورس	وزن تیموس	وزن طحال	تیتر نیوکاسل
اسید سیتریک (%)				
A ₁	۰/۲۰	۰/۴۶	۰/۱۱	۱/۵۵
A ₂	۰/۲۲	۰/۴۷	۰/۱۰	۱/۹۰
P value	۰/۰۶	۰/۷	۰/۱	۰/۲
SE	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۱۱
فیتاز (FTU)				
B ₁	۰/۱۹ ^b	۰/۴۶	۰/۱۰	۱/۷۵
B ₂	۰/۲۳ ^a	۰/۴۷	۰/۱۱	۱/۷۰
P value	۰/۰۲	۰/۹	۰/۲	۰/۴
SE	۰/۰۶	۰/۰۱	۰/۰۰۵	۰/۱۱
اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)				
B ₁ × A ₁	۰/۱۸ ^b	۰/۴۷	۰/۱۱	۱/۵۰
B ₂ × A ₁	۰/۲۳ ^a	۰/۴۶	۰/۱۱	۱/۶۰
B ₁ × A ₂	۰/۲۱ ^a	۰/۴۶	۰/۰۹	۲
B ₂ × A ₂	۰/۲۴ ^a	۰/۴۷	۰/۱۱	۱/۸۰
P value	۰/۰۴	۰/۷	۰/۱	۰/۳۲
SE	۰/۰۹	۰/۰۲	۰/۰۰۷	۰/۱۶

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P < 0.05$).

* گرم به ازای صد گرم وزن زنده

A1 و A2: صفر و یک درصد اسید سیتریک

B1 و B2: صفر و ۵۰۰ واحد آنزیم فیتاز

سطح اسید سیتریک استفاده شده دلیل عدم معنی داری آن بر سیستم ایمنی بوده است، اما در ترکیب با آنزیم فیتاز این اثر تقویت شده است ($P < 0.05$).

تأثیر اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثر متقابل آن‌ها بر بازده لاشه و وزن نسبی اجزای لاشه در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان دادند که افزودن اسید سیتریک میزان چربی محوطه بطنی را کاهش داد ($P < 0.05$). در صورتی که آنزیم فیتاز باعث افزایش میزان چربی محوطه بطنی گردید ($P < 0.05$). وزن نسبی سینه، ران، بال‌ها و درصد بازده لاشه تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفتند ($P > 0.05$).

شعبانی فتح و همکاران (۱) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی باعث کاهش تولید اسید چرب و یا تبدیل آن به گلیسرید می‌شوند که نتیجه آن کاهش ذخیره چربی در محوطه بطنی می‌باشد. همچنین تصور می‌شود که افزودن آنزیم فیتاز با افزایش چشمگیر قابلیت هضم مواد مغذی (۸) موجب افزایش انرژی آزاد شده از جیره غذایی شده است.

فلوروپنری و همکاران (۱۵) گزارش کردند که اسیدهای آلی محلول در چربی بوده و در شکل غیرتفکیک شده می‌توانند از غشای نیمه تراوا وارد سلول میکروارگانیسم‌ها شوند. در داخل سلول باکتری، این اسیدها تفکیک شده و با تولید یون‌های هیدروژن و بیکربنات محیط درون سلول را اسیدی می‌کنند. با افزایش اسیدیته، سلول باکتری برای ثابت ماندن pH محیط درونی خود اقدام به بیرون راندن پروتون‌ها می‌کند که به این ترتیب باکتری انرژی زیادی مصرف میکند. از طرف دیگر یون RCOO^- نیز موجب توقف یا کاهش سنتز DNA و پروتئین می‌شود. به این ترتیب شدت رشد باکتری‌ها کاهش یافته و سیستم ایمنی تقویت می‌گردد. لیو و همکاران (۲۷) گزارش کردند که استفاده از آنزیم فیتاز منجر به افزایش قدرت سیستم ایمنی می‌شود. کبیر و همکاران (۲۱) و رامارائو و همکاران (۳۰) دلایل تقویت سیستم ایمنی را هایپرتروفی و هایپرپلازی اندام‌های لنفوئیدی در گروه‌های دریافت کننده جایگزین-های آنتی بیوتیک محرک رشد عنوان کرده‌اند. عبدالفتاح و همکاران (۴) گزارش کردند که افزودن اسید سیتریک به جیره جوجه‌های گوشتی منجر به افزایش تعداد سلولهای ایمنی و افزایش وضعیت ایمنی آن‌ها می‌شود. بنظر می‌رسد که در مطالعه حاضر پایین بودن

جدول ۵- تأثیر سرکه، اسید سیتریک، آنزیم فیتاز و اثرات متقابل آن‌ها بر ویژگی‌های لاشه جوجه‌های گوشتی در ۴۲ روزگی

تیمار	بازده لاشه [*]	چربی محوطه بطنی [*]	سینه [*]	ران [*]	بال‌ها [*]
اسید سیتریک (%)					
A ₁	۷۴/۸۳	۱/۴۷ ^a	۲۵/۰۱	۲۱/۵۶	۷/۵۹
A ₂	۷۴/۱۳	۱/۳۳ ^b	۲۵/۵۸	۲۱/۵۴	۷/۶۴
P value	۰/۷	۰/۰۴	۰/۳	۰/۹	۰/۵
SE	۰/۳۶	۰/۰۳	۰/۴	۰/۲	۰/۰۵
فیتاز (FTU)					
B ₁	۷۴/۲۸	۱/۲۸ ^b	۲۵/۳۲	۲۱/۶۸	۷/۷۱
B ₂	۷۴/۶۹	۱/۵۱ ^a	۲۵/۲۷	۲۱/۴۲	۷/۵۳
P value	۰/۳	۰/۰۲	۰/۹	۰/۴	۰/۰۶
SE	۰/۳۶	۰/۰۳	۰/۴	۰/۲	۰/۰۵
اسید سیتریک (%) × فیتاز (FTU)					
B ₁ × A ₁	۷۴/۹۳	۱/۳۰ ^b	۲۵/۲۱	۲۱/۱۴	۷/۶۲
B ₂ × A ₁	۷۴/۷۴	۱/۶۵ ^a	۲۴/۸۲	۲۱/۳۹	۷/۵۶
B ₁ × A ₂	۷۳/۶۳	۱/۳۷ ^b	۲۵/۴۳	۲۱/۶۱	۷/۷۹
B ₂ × A ₂	۷۴/۶۴	۱/۳۸ ^b	۲۵/۷۳	۲۱/۴۶	۷/۵۰
P value	۰/۶	۰/۰۴	۰/۵	۰/۷	۰/۲
SE	۰/۵۱	۰/۰۵	۰/۶	۰/۳	۰/۰۸

میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی دار می‌باشند ($P < 0.05$).

^{*} گرم به ازای صد گرم وزن زنده

A1 و A2: اسید سیتریک صفر و یک درصد

B1 و B2: آنزیم فیتاز صفر و ۵۰۰ واحد

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این آزمایش نشان دادند که اسید سیتریک سبب کاهش چربی‌های مضر و تا حدودی بهبود صفات لاشه و سیستم ایمنی جوجه‌های گوشتی گردید. افزودن اسید سیتریک به جیره‌های حاوی آنزیم فیتاز هم تا حدودی صفات مورد مطالعه را بهبود بخشید. لذا نتایج نشان می‌دهد که احتمالاً اسید سیتریک دارای اثر همکوشی بر بازدهی آنزیم فیتاز می‌باشد.

از آنجایی که در این تحقیق آنزیم به صورت سرک^۱ استفاده شده، لذا به نظر می‌رسد انرژی مازاد بر نیاز حیوان به صورت چربی در محوطه بطنی ذخیره شده است. عدیل و همکاران (۵) گزارش کردند که استفاده از اسیدهای آلی تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات لاشه (وزن گردن، سینه، ران‌ها، بال‌ها، کبد، قلب و سنگدان) جوجه‌های گوشتی نداشت. تیرومیگنانام و همکاران (۳۹) هم گزارش کردند که در مطالعه آن‌ها اسیدهای آلی تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی نداشتند.

منابع

- ۱- شعبانی فتح، ع. ا.، ر. نجفی، و غ. ر. نجفی. ۱۳۹۱. تأثیر جایگزینی آنتی‌بیوتیک محرک رشد با اسیدهای آلی بر تغییرات بافتی روده کوچک، عملکرد و خصوصیات لاشه جوجه‌های گوشتی. نشریه پژوهش‌های علوم دامی. ۱: ۱۱۳-۱۲۴.
- ۲- ضیایی، ح.، م. ا. کریمی ترشیزی، م. باشتی. ۱۳۸۸. تأثیر ترکیبات جایگزین آنتی‌بیوتیک بر پاسخ ایمنی همورال و برخی فرآیندهای سرم خون جوجه‌های گوشتی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد شانزدهم، ویژه‌نامه ۲.
- ۳- قهری، ح.، م. شیوازاد، پ. فرهومند، ج. اقبال و م. نجف‌زاده. ۱۳۸۶. بررسی اثر استفاده از اسیدهای آلی در جیره بر عملکرد جوجه‌های گوشتی. پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان. ۷۷: ۳۳-۲۶.
- 4- Abdel-Fattah, S. A., M. H. EI-Mednay, and V. Abdul-Azeem. 2008. Thyroid activity of broiler chickens fed supplemental organic acids. *Int. J. Poult. Sci.* 7:215-222.
- 5- Adil, Sh., T. Banday, G. A. Bhat, M. Salahuddin, M. Raqubi, and S. Shanaz. 2011. Response of broilers chicken to dietary supplementation of organic acids. *J. Cent. Europ. Agri.* 12(3): 489- 508.
- 6- Afsharmanesh, M., and J. Pourreza. 2005. Effect of calcium, cit-ric acid, ascorbic acid, vitamin D3 on the efficacy of microbial phytase in broiler starters fed wheat-based diets on performance, bone mineralization and ileal digestibility. *Int. J. Poult. Sci.* 4:418-424.
- 7- Andrys, R., D. Klecker, L. Zeman, and E. Marecek. 2003. The effect of changed pH values of feed in isophosphoric diets on chicken broiler performance. *Czech J. Anim. Sci.* 48:197-206.
- 8- Aydin, A., A. Y. Pekel, G. Issa, G. demirel, and P. H. Patterson. 2010. Effect of dietary copper, citric acid and microbial phytase on digesta PH and ileal and carcass microbiota of broiler chickens fed a low available phosphorus diet. *J. Appl. Poult. Res.* 19:422-431.
- 9- Boling, S. D., D. M. Webel, I. Mavromichalis, C.M. Parsons, and D. H. Baker. 2000. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *J. Anim. Sci.* 78: 682-689.
- 10- Brenes, A., A. Viveros, I. Arija, C. Centeno, M. Pizarro, and C. Bravo. 2003. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 110: 201-219
- 11- Broiler Ross 308 Performance objective, 2012.
- 12- Castanon, J. L. R. 2007. History of the use of antibiotics as growth promoters in European poultry feeds. *Poult. Sci.* 86:2466-2471.
- 13- Ebrahimnezhad, Y., N. Maheri-Sis, A. Aghajanzadeh-Golshani, J. Ghiasi Galekandi, M. Sarikhan, and A. darvishi. 2012. Effect of combination of citric acid and microbial phytase on the serum concentration and digestibility of some minerals in broiler chickens. *Asian. J. Anim. Sci.* ISSN. 1819-1878/ DOI: 10.3923/ajas.
- 14- Elson, C. E., and A. A. Qureshi. 1995. Coupling the cholesterol- and tumor-suppressive actions of palm oil to the impact of its minor constituents on 3-hydroxy-3-ethylglutaryl coenzyme A reductase activity. *Prostag. Leukotr Ess.* 52: 205-208.
- 15- Florou-Paneri, P., E. Christaki, N. A. Botsoglou, A. Kalousis, and A. B. Spais. 2001. Performance of broilers and the hydrogen ion concentration in their digestive tract following feeding of diets with different buffering capacities. *Arch. Geflügelk.* 65: 236-240.
- 16- Griggs, J. P., and J. P. Jacob. 2005. Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *J. Appl. Poult. Res.* 14:750-756.

- 17- Gunal, M., G. Yayli, O. Kaya, N. Karahan, and V. Sulak. 2006. The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broilers. *Int. J. Poult. Sci.* 5:149-155.
- 18- Gutierrez del Alamo, A., M. W. A. Verstegen, L. A. Den Hartog, P. Perez de Ayala, and M. J. Villamide. 2008. Effect of wheat cultivar and enzyme addition to broiler chicken diets on nutrient digestibility, performance, and apparent metabolizable energy content. *Poult. Sci.* 84:759-767.
- 19- Hajati, H., M. Rezaei, and H. Sayyazadeh. 2009. The effects of enzyme supplementation on performance, carcass characteristics and some blood parameters of broilers fed on corn-soybean meal-wheat diets. *J. Poult. Sci.* 8: 1199-1205.
- 20- Hudha, M. N., M. S. Ali, M. A. Azad, M. M. Hossian, M. Tanjim, S. C. Bormon, MS. Rahman, M. M. Rahman, and A. K. Paul. 2010. Effect of acetic acid on growth and meat yield in broilers. *Int. J. Poult. Sci.* 1(4): 31-35.
- 21- Kabir, S., M. Rahman, M. B. Rahman, and S. U. Ahmad. 2004. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *Int. Poult. Sci.* 3:5. 361-364.
- 22- Katanbaf, M. N., E. A. Dunnington, and P. B. Siegel. 1989. Restricted feeding in early and late-feathering chickens. Growth and physiological responses. *Poult. Sci.* 68: 344-351.
- 23- Klaver, F. A. M., and R. Vander Meer. 1993. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile Salt-deconjugating activity. *Appl. Envir. Microb.* 59:1120-1124.
- 24- Kleyn, R. 2012. Finding correct inclusion levels of phytase in broiler diets. *World Poult. Vol.* 28, No. 2.
- 25- Langhout, P. 2000. New additives for broiler chickens. *Feed. Mix.* 24-27.
- 26- Lee, K. W., H. Evrest, and A. C. Beynen. 2004. Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.* 3: 738-752.
- 27- Liu, N., Y. J. Ru, A. J. Cowieson, F. D. Li, and X. CH. Cheng. 2008. Effect of phytat and phytase on the performance and immune function on broilers fed nutritionally margarin diets. *J. Poult. Sci.* 87: 1105-1111.
- 28- Nezhad, Y. E., M. Shivazad, M. Nazeeradl, and M. M. S. Babak. 2007. Influence of citric acid and microbial phytase on performance and phytate utilization in broiler chicks fed a corn-soy-bean meal diet. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 61:407-413. (In Persian)
- 29- Nourmohammadi, R., S. M. Hosseini, and H. Farhangfar. 2010. Effect of dietary acidification on some blood parameters and weekly performance of broiler chickens. *J. Anim. Sci. Vet.* 9(24): 3092- 3097.
- 30- Ramarao, S. V., M. R. Reddy, M. V. L. N. Raju, and A. K. Panda. 2004. Growth, nutrient utilization and immunocompetence in broiler chicken fed probiotic, gut acidifier and antibacterial compounds. *Ind. J. Poult. Sci.* 39:2.125-130.
- 31- Ricke, S. C. 2003. Perspective on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult. Sci.* 82: 632-639.
- 32- Ros, E. 2000. Intestinal absorption of triglyceride and cholesterol. Dietary and pharmacological inhibition or reduce cardiovascular risk. *Atherosclerosis.* 51: 357-379.
- 33- Santoso, U., K. Tanaka, and S. Ohatani. 1995. Effect of dried *Bacillus subtilis* culture on growth, Body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks. *J. Brit. Nut.* 74:523-529.
- 34- SAS. 2005. SAS User's Guide. Statistics. Version 9.12. Edn. SAS Institute Inc.
- 35- Shahbazi, P., and N. Maleknia. 1992. General biochemistry. Univ. Tehran. Press 531 p. (In Persian)
- 36- Simons, P. C. M., H. A. J. Versteegh, A. W. Jongsbloed, P. A. Kemme, P. Slump, K. D. Bos, M. G. E. Olters, R. F. Beudeker, A., and G. J. Verschoolar. 1990. Improvement of phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *Brit. J. Nut.* 64:525-540.
- 37- Snyder, D., W. Marquadt, E. Mallinson, P. Savage, and C. Allen. 1984. Rapid serological profiling by enzyme linked immunosorbent assay. III. Simultaneous measurement of antibody titers to infectious bronchitis virus, infectious bursal disease and Newcastle disease virus in a single serum dilution. *Avian. Dis.* 28:12-24.
- 38- Taherpour, K., H. Moravej, M. Shivazad, M. Adibmoradi, and B. Yakhchali. 2009. Effects of dietary probiotic, probiotic and butyric acid glycerides on performance and serum composition in broiler chickens. *Afric. J. biotec.* 8 (10): 3229-2334.
- 39- Thirumeignanam, D., R. K. Swain, S. P. Mohanty, and P. K. Pati. 2006. Effects of Dietary supplementation of organic acids on performance of broilers chicken. *Ind. J. Anim. Nutr.* 23(1): 34-40.
- 40- Van Immerseel, F., J. De Buck, I. De Smet, F. Pasmans, F. Haesebrouck, and R. Ducatelle. 2004. Interactions of butyric acid and acetic acid-treated *Salmonella* with chicken primary cecal epithelial cells in vitro. *Avian. Dis.* 48:384-391.