

**RESEARCH PAPER****OPEN ACCESS****Effect of administrating an encapsulated blend of organic acids in drinking water on growth performance and small intestine microflora of broiler chickens****M. Rahnama-Ghaleroudkhani¹, M. Mohiti-Asli^{2*}, H. Khalilvandi-Behruzyar³**

1. Former MSc Student in Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

(Received: 08-01-2021 – Accepted: 10-05-2021)

Introduction: Organic acids are one of the alternatives to antibiotic growth promoters. They have beneficial effects on poultry performance and gastrointestinal microbial balance. In general, the addition of organic acids to the diet lowers the pH of the diet and gastrointestinal tract, stimulates growth, helps to overcome the population of beneficial bacteria over pathogenic bacteria, and reduces toxic metabolites produced by harmful bacteria. The purpose of this study was to determine the antibacterial effects of encapsulated versus non-encapsulated organic acids (OA) supplementation in drinking water on intestinal microbiota and broilers' growth performance.

Materials and methods: A total of 360-day-old Ross 308 male broiler chicks were divided into six treatments, four replicates, and 15 chicks per replicate in a completely randomized design. The experimental treatments included: a negative control (without organic acids; OA, in drinking water), a positive control (200 mL of a commercial OA, acidifier 4+ in 1000 L drinking water), 500 and 1000 mL non-encapsulated blend of OA, and 500 and 1000 g encapsulated blend of OA in 1000 L drinking water. The blend of OA was composed of butyric, propionic, and acetic acids. Body weight and feed intake were measured weekly on a pen basis. From these data, average daily gain (ADG), average daily feed intake (ADFI), average daily water intake (ADWI) and feed conversion ratio (FCR) were calculated over the total rearing period. The European production efficiency factor (EPEF) was also calculated for the entire period of the trial. On day 42, gastrointestinal samples were collected from a total of 48 sacrificed birds ($n = 12$ birds from each experimental group) for pH and microflora analysis. Digesta from different sections of the gastrointestinal tract was collected and pH was measured using a digital pH meter. Total coliforms, lactobacilli, and *Escherichia coli* were counted in ileal digesta using a plate method with the use of a specific medium.

Results and discussion: Broilers with an encapsulated blend of OA in drinking water had higher ($P < 0.05$) body weight, ADG, and EPEF, and lower ($P < 0.05$) FCR than the negative control. Broilers in the PC group and those with OA in their drinking water exhibited greater final BW, ADG, and FCR than those in the NC group ($P < 0.05$) throughout the rearing period (0 to 21 d, 22 to 42 d, and 0 to 42 d). Organic acids can improve broilers' performance by inhibiting the growth of pathogenic bacteria in the intestine. In the current study, administration of encapsulated OA in the drinking water of broilers resulted in lower ($P < 0.05$) pH in jejunum when compared to the negative control. Dietary organic acids reduced the pH of different sections of the gastrointestinal tract of broilers compared to those fed the control diet. The administration of 500 g encapsulated or 1000 mL non-encapsulated blend of OA in the current study resulted in a lower count of *E. coli* compared with the negative control ($P < 0.05$). The count of *E. coli* was linearly decreased ($P < 0.05$) in the ileum of broilers with graded levels of the non-encapsulated blend of OA. It seems that the gizzard and stomach of birds drink acidified water were more acidic and might

* Corresponding author: mmohiti@guilan.ac.ir



decrease the bacteria that were present in the gastrointestinal tract, especially in the lower gastrointestinal tract. Organic acids provide acidic pH in the gut, which increases beneficial bacteria, and decreases harmful bacteria of broilers.

Conclusions: Growth performance and the European production efficiency factor were generally greater with encapsulated OA compared with non-encapsulated one. Results of the current study showed that administration of 500 mg encapsulated blend of OA was sufficient for achieving the desired results.

Keywords: Organic acid, Broiler, Growth performance, Microencapsulation, Intestinal microflora

Ethics statement: This study was conducted with the full consideration of animal welfare and the approval of this study was granted by the Ethics Committee of University of Guilan, Iran.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

Acknowledgment: The authors thank the Vivan Knowledge Foundation Group for financial support of the thesis and the Bon Da Faravar Development Company for providing the 4+ acidifier used in this experiment.

How to cite this article:

Rahnama-Ghalehoudkhani M., Mohiti-Asli M. and Khalilvandi-Behrasyar H. 2022. Investigating the relationship between lactation curve parameters and some economic traits of Iranian Holstein cows. Animal Production Research, 11(1): 15-25. doi: 10.22124/AR.2022.18596.1587



مقاله پژوهشی

اثر افزودن ترکیبی از اسیدهای آلی پوشش دار شده در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد و فلور میکروبی روده کوچک جوجه های گوشتی

مطهر رهنمای قلعه رودخانی^۱، مازیار محیطی اصلی^{۲*}، حامد خلیل‌وندی بهروزیار^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۹/۰۱/۱۳۹۹ - تاریخ پذیرش: ۲۰/۰۲/۱۴۰۰)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی آثار ضد میکروبی افزودن اسیدهای آلی پوشش دار شده در آب آشامیدنی بر میکروفلور روده و عملکرد جوجه های گوشتی انجام شد. تعداد ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر سویه راس ۳۰۸ به شش گروه آزمایشی، چهار تکرار و ۱۵ قطعه جوجه در هر تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی تقسیم شدند. تیمارها شامل شاهد منفی (بدون اسید آلی در آب آشامیدنی)، شاهد مثبت (۲۰۰ میلی لیتر اسید آلی تجاری؛ اسیدیفار^۴، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی لیتر ترکیب اسیدهای آلی بدون پوشش، و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گرم ترکیب اسیدهای آلی پوشش دار شده در هر ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی بودند. صفات عملکردی به صورت هفتگی اندازه گیری و در نهایت برای کل دوره (۴۲ روز) گزارش شد. جوجه های گوشتی که اسیدهای آلی پوشش دار شده را در آب آشامیدنی دریافت نمودند، وزن بدن، میانگین افزایش وزن روزانه و شاخص کارآیی اروپایی بیشتر و ضریب تبدیل خوراک کمتر نسبت به تیمار شاهد منفی در کل دوره داشتند ($P < 0.05$). افزودن اسید آلی پوشش دار سبب کاهش pH زئنوم نسبت به تیمار شاهد منفی شد ($P < 0.05$). افزودن ۵۰۰ گرم اسیدهای پوشش دار یا ۱۰۰۰ میلی لیتر اسیدهای بدون پوشش سبب کاهش شمار باکتری / شریشیا کلای نسبت به شاهد منفی شد ($P < 0.05$). شمار باکتری / شریشیا کلای در ایلهوم جوجه های گوشتی به طور خطی با افزایش سطوح اسیدهای آلی بدون پوشش کاهش یافت ($P < 0.05$). به طور کلی، نتایج نشان داد که سطح ۵۰۰ گرم اسیدهای آلی پوشش دار سبب بهبود عملکرد رشد و فلور میکروبی روده جوجه های گوشتی می شود.

واژه های کلیدی: اسید آلی، جوجه گوشتی، عملکرد رشد، ریز پوشانی، میکروفلور روده

* نویسنده مسئول: mmohiti@guilan.ac.ir

doi: 10.22124/AR.2022.18596.158

مقدمه

اسیدهای آلی پوشش دار می‌توان مقادیر کمتری از آن را با بازدهی بیشتری در جیره دام و طیور استفاده نمود (Shariatmadari and Mohiti-Asli, 2008). هدف از انجام این آزمایش، بررسی و مقایسه آثار افزودن اسیدهای آلی پوشش دار و بدون پوشش در آب آشامیدنی بر عملکرد رشد، pH دستگاه گوارش، میکروفلور روده جوجه‌های گوشتی و مقایسه آثار سطوح این اسیدهای آلی تولید شده با یک اسید آلی تجاری بود.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۳۶۰ قطعه جوجه گوشتی یکروزه نر سویه راس ۳۰۸ استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش گروه آزمایشی، چهار تکرار و ۱۵ قطعه جوجه گوشتی در هر واحد آزمایشی انجام شد. میانگین وزن اولیه جوجه‌ها 43 ± 2 گرم بود. جوجه‌های گوشتی روی بستری از پوشال و ابعاد قفس به طول $1/6$ ، عرض $0/8$ و ارتفاع ۱ متر به مدت ۴۲ روز پرورش یافتند. در تمام طول دوره پرورش، آب و خوراک به صورت آزاد در اختیار پرندگان قرار داشت. برنامه واکسیناسیون مطابق با روش مرسوم در منطقه انجام شد. در زمان‌های واکسیناسیون از آبخوری‌های کله قندی استفاده می‌شد و آب آشامیدنی حاوی افزودنی از دسترس پرنده خارج می‌شد. اجزاء و ترکیبات شیمیایی جیوه غذایی مورد استفاده در دوره پرورش بر اساس احتیاجات تغذیه‌ای جوجه گوشتی راس ۳۰۸ تنظیم شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی شامل سطوح صفر (شاهد منفی)، ۲۰۰ میلی‌لیتر اسیدی‌فایبر تجاری (شاهد مثبت؛ شامل اسیدهای فرمیک، پروپیونیک، لاکتیک، سیتریک و سوربیک)، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌لیتر ترکیب اسیدهای آلی بدون پوشش، و ۵۰۰ و ۱۰۰۰ گرم ترکیب اسیدهای آلی پوشش دار شده در هر ۱۰۰۰ لیتر آب آشامیدنی بودند. شاهد مثبت یک اسید آلی تجاری بود که به وسیله شرکت توسعه بن‌دا فرآور با نام تجاری اسیدی‌فایبر $+4$ عرضه شده است. سایر تیمارها شامل مخلوطی از اسیدهای آلی شامل اسید پروپیونیک (۱۷۵ گرم، مرک آلمان، ۱۰۰٪ خلوص)، اسید بوتیریک (۱۳۵ گرم، مرک آلمان، ۱۰۰٪ خلوص) و اسید استیک (۲۱۵ گرم، ایرانی، ۱۰۰٪ خلوص) بودند که به وسیله مجری ترکیب و به صورت آزاد یا پوشش دار شده بررسی شدند. به منظور پوشش دار کردن اسیدهای آلی مورد استفاده، به نسبت ۱ به ۲ با ترکیبات پوشاننده شامل:

نگرانی مصرف کنندگان محصولات دام و طیور در خصوص ایجاد مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک سبب شده تا پژوهش‌های زیادی به منظور یافتن جایگزین‌های مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد انجام شود. بدین منظور، ترکیبات متعددی مانند پروپیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، ترکیبات گیاهی، آنزیم‌ها و اسیدهای آلی در خوراک طیور مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. یکی از جایگزین‌های ممکن برای آنتی‌بیوتیک‌های محرک رشد، اسیدهای آلی هستند. افزودن مقادیر بسیار کم افزودنی‌ها به خوراک و مخلوط کردن یکنواخت آن‌ها کار ساده‌ای نیست و احتمال دارد حیوانات مقادیر متفاوتی از افزودنی را مصرف نمایند. همچنین در شرایط تنفس و بیماری، کاهش مصرف خوراک سبب دریافت ناکافی افزودنی‌های خوراکی می‌شود، لذا به منظور دریافت مقادیر کافی افزودنی‌ها، پیشنهاد شده است که برخی از آنها مانند اسیدهای آلی از راه آب آشامیدنی مصرف شوند (Shariatmadari and Mohiti-Asli, 2008). مصرف آب آشامیدنی حاوی اسید آلی در دوره‌های بحرانی رشد طیور، از راه ثبات در میکروفلورای روده سبب بهبود سلامت روده و در نهایت بهبود عملکرد و کاهش هزینه‌های تولید می‌شود. افزایش اسیدیتۀ آب آشامیدنی در هفت روز ابتدای پرورش جوجه، به دلیل سرعت رشد بالا و توسعه ریخت‌شناسی روده و چینه‌دان پرنده می‌تواند آثار مفیدی داشته باشد. مصرف آب آشامیدنی اسیدی شده با اسید آلی می‌تواند لایه دوم حفاظتی باکتری‌های اسیدلاکتیک را فراهم نموده و کم کند تا آنها به عنوان بخشی از اکوسیستم طبیعی، مدت زمان بیشتری در چینه‌دان باقی مانده و آثار مفید خود را نشان دهند. باکتری‌های اسید لاکنیک به ویژه لاکتوباسیل‌ها معمولاً برای حیوان میزان مفید تلقی می‌شوند زیرا می‌تواند در قالب مهار رقابتی از رشد عوامل بیماری‌زا از قبیل سالمونلا و کلستریدیوم ممانعت نمایند و سبب بهبود عملکرد دستگاه گوارش شوند (Menconi et al., 2014). اسیدهای آلی پوشش دار شده با آزادسازی آهسته اسیدها، سبب اسیدی شدن یکنواخت مجرای گوارشی شده و در پی آن، مصرف خوراک و عملکرد رشد را بهبود می‌دهند. در صورتی که اسیدهای آلی آزاد ممکن است pH را در قسمت‌های ابتدایی دستگاه گوارش به شدت تحت تأثیر قرار دهند. بنابراین با استفاده از

تبديل خوراک (FCR) به صورت هفتگی محاسبه شد. در پایان، شاخص کارآیی اروپایی (EEF) محاسبه شد. در پایان دوره از هر قفس، دو قطعه جوجه با وزن نزدیک به میانگین وزنی انتخاب شد و بعد از شماره گذاری پا و ثبت وزن زنده، جوجه‌ها ذبح شده و بلافاصله پرکنی انجام شد. برای اندازه‌گیری pH، بلافاصله پس از کشتار مقدار یک گرم از محتويات چینه‌دان، پیش‌معده، سندگان، دوازده‌هه، رژنوم، ایلئوم و سکوم در ۲ میلی‌لیتر آب دیونیزه در لوله آزمایش مخلوط شد و با استفاده از دستگاه ورتکس همگن شد و با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال (WTW, Inolab (Chaveerach *et al.*, 2004) (7310) اندازه‌گیری شد (Chaveerach *et al.*, 2004). برای سنجش اثر اسیدهای آلی پوشش‌دار شده و بدون پوشش بر فلور میکروبی روده، محتويات ایلئوم برای شمارش باکتری‌های اشیریشیا کلای، لاکتوباسیلوس و کلی فرم‌ها جمع‌آوری شد و جهت انجام آزمایش میکروفلور به آزمایشگاه ارسال شد. ابتدا رقت سازی و سپس در سطح پلت‌های حاوی محیط کشت به صورت خطی پخش شد (Pirgozliev *et al.*, 2008).

مالتوکسترین (DE=18)، گلوتن گندم فعال شده، پکتین، ایزوله پروتئین آب پنیر، گلوماتین، سدیم آلرینات و صمغ عربی مخلوط شده و مخلوط نهایی پس از یکنواخت شدن با هموزنایزر مکائیکی با سرعت ۱۴ هزار دور در دقیقه، با استفاده از آون خلا در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۹۰۰ میلی‌بار خشک شد. ترکیبات پس از خشک شدن با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی، آسیاب شدند. در سه روز اول پرورش از آبخوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آبخوری نیپل استفاده شد. برای هر قفس به‌طور جداگانه یک مخزن درسته ۱۰ لیتری تعییه شد و شلنگی که به لوله مستقیم خط آبخوری وصل بود را جدا کرده و به لوله منبع وصل شد. جنس شلنگ‌ها از جنس پلاستیک و منبع‌ها هم از جنس پلاستیک بودند. وزن بدن پرنده‌ها، آب و خوراک مصرفی و تلفات آن‌ها در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ آزمایش اندازه‌گیری و وزن آن‌ها ثبت شد. از این نتایج، افزایش وزن روزانه (BWG)، خوراک مصرفی روزانه (ADWI) و ضریب روزانه (ADFI)، آب مصرفی روزانه (ADWI) و ضریب

جدول ۱- اجزا و ترکیبات جیره غذایی جوجه‌های گوشتی در دوره‌های آغازین (۰ تا ۱۰ روزگی)، رشد (۱۱ تا ۲۴ روزگی) و پایانی (۲۵ تا ۴۲ روزگی)

Table 1. Ingredients and nutrient composition of basal diets at starter (0-10 d), grower (11-24 d) and finisher (25-42 d) periods

| Ingredients (%) | Starter | Grower | Finisher | Calculated analysis | Starter | Grower | Finisher |
|-----------------------------|----------|-----------|-----------|--------------------------------|----------|-----------|-----------|
| | (0-10 d) | (11-24 d) | (25-42 d) | | (0-10 d) | (11-24 d) | (25-42 d) |
| Corn grain | 52.145 | 54.611 | 59.406 | Metabolizable energy (kcal/kg) | 2850 | 2950 | 3050 |
| Soybean meal | 39.800 | 38.211 | 32.947 | Crude protein (%) | 22.17 | 20.46 | 18.59 |
| Soybean oil | 1.621 | 3.187 | 3.908 | Methionine (%) | 0.61 | 0.56 | 0.51 |
| Corn gluten meal | 1.963 | 0.00 | 0.00 | Methionine + Cysteine (%) | 0.90 | 0.83 | 0.76 |
| Calcium carbonate | 0.986 | 0.901 | 0.837 | Lysine (%) | 1.22 | 1.09 | 0.98 |
| Dicalcium phosphate | 1.980 | 1.756 | 1.576 | Threonine (%) | 0.82 | 0.73 | 0.66 |
| Common salt | 0.235 | 0.267 | 0.217 | Valine (%) | 0.91 | 0.85 | 0.77 |
| Sodium bicarbonate | 0.147 | 0.110 | 0.188 | Arginine (%) | 1.33 | 1.27 | 1.14 |
| L-Threonine 99% | 0.106 | 0.066 | 0.055 | Isoleucine (%) | 0.83 | 0.78 | 0.70 |
| DL-Methionine 99% | 0.311 | 0.282 | 0.256 | Linoleic acid (%) | 2.13 | 2.98 | 3.43 |
| L-Lysine HCl 78% | 0.205 | 0.108 | 0.110 | Sodium (%) | 0.15 | 0.15 | 0.15 |
| Vitamin premix ¹ | 0.250 | 0.250 | 0.250 | Calcium (%) | 0.96 | 0.87 | 0.79 |
| Mineral premix ² | 0.250 | 0.250 | 0.250 | Available phosphorus (%) | 0.48 | 0.44 | 0.40 |

1. Vitamin premix provided the following per kilogram of diet: vitamin (trans-retinyl acetate), 10000IU; vitamin D₃ (cholecalciferol), 2000 IU; vitamin E (DL-alpha-tocopherol acetate), 45 IU; vitamin K₃ (bisulfate menadione complex), 3 mg; thiamine (thiaminemononitrate), 3 mg; riboflavin, 9 mg; nicotinic acid, 30 mg; pantothenic acid (D-calcium pantothenate), 10 mg; vitamin B₆, 4 mg; d-biotin, 0.1 mg; folic acid, 2 mg; vitamin B₁₂ (cyanocobalamin), 0.02 mg and choline (choline chloride), 500 mg.

2. Mineral premix provided the following per kilogram of diet: iron (FeSO₄•7H₂O), 55 mg; iodine (Ca (IO₃)₂), 1.3 mg; manganese (MnSO₄•H₂O), 100 mg; zinc (ZnO), 85 mg; copper (CuSO₄•5H₂O), 13 mg; selenium (Na₂SeO₃), 0.2 mg.

محققی گزارش کرد که استفاده از اسیدهای آلی پوشش دار شده در سطح ۰/۱ درصد نسبت به اسیدهای آلی بدون پوشش در خوکهای از شیر گرفته شده سبب افزایش وزن بیشتری شد، اما اثری بر مصرف خوراک آنها نداشت. این محققان دلیل این نتیجه را این طور بیان کردند که اسیدهای آلی پوشش دار شده با کاهش pH دستگاه گوارش، مورفولوژی و عملکرد روده را بهبود می‌بخشند و یکپارچگی و اینمی روده را افزایش می‌دهند، در نتیجه عملکرد رشد بهبود می‌یابد (Jia *et al.*, 2010).

در تحقیقی که برای مقایسه اسید لاکتیک به فرم پوشش دار و آزاد صورت گرفت، گزارش شد که استفاده از سطح ۰/۶ درصد اسید لاکتیک پوشش دار شده در خوراک جوجه‌های گوشتی سبب افزایش وزن و کاهش ضریب تبدیل خوراک نسبت به فرم آزاد شد (Natsir *et al.*, 2010). در تحقیقی دیگر نشان داده شد که افزودن اسید پروپیونیک، پروپیونات آمونیوم، اسید فرمیک و فرمات آمونیوم به صورت مقطعی و در کل دوره در آب آشامیدنی سبب افزایش وزن بیشتر و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد، در حالی که اثری بر مصرف خوراک نداشت (Hamid *et al.*, 2018). در مطالعه‌ای گزارش شد که افزودن سطوح ۰/۷ و ۱/۴ درصد اسید استیک در جیره سبب افزایش وزن جوجه‌های گوشتی و Roostaei-Alimehr *et al.* (2014). همچنین برخی محققین گزارش کردند که افزودن اسید آلی به جیره سبب افزایش وزن و بهبود ضریب تبدیل خوراک شد ولی اثری بر مصرف خوراک نداشت Rodjan *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2018; Roth *et al.*, 2019. مطالعات نشان داد که با استفاده از ۰/۵، ۰/۰ و ۰/۷۵ درصد اسید استیک در جیره غذایی، افزایش وزن Ghazalah *et al.* (2011). اسیدهای آلی تجزیه پروتئین را در معده افزایش داده و قابلیت هضم پروتئین و اسید آمینه را افزایش می‌دهند، همچنین سبب کاهش pH روده می‌شوند که عملکرد پرنده را بهبود می‌بخشند (Samanta *et al.*, 2010) و از راه حفظ سلامتی دستگاه گوارش سبب بهبود عملکرد رشد و ضریب تبدیل خوراک خواهد شد (Gornowicz and Dziadek, 2002). در تحقیقی گزارش شد که افزودن مخلوطی از اسیدهای آلی پروپیونیک، فورمات کلسیم، فورمات آمونیوم، پروپیونات آمونیوم، پروپیونات کلسیم، فرم آلدئید و لاکتان کلسیم به جیره جوجه‌های

انکوباسیون محیط کشت MRS آگار به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس در شرایط بی‌هوایی انجام شد. محیط کشت EMB و MacConkey آگار به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۹ درجه سلسیوس انکوباسیون شدن و تعداد کلیه‌های تهیه شده برای هر یک از محتويات ایلئوم تعیین شد (Moharrery *et al.*, 2005).

داده‌های آزمایش ابتدا برای توزیع نرمال آزمون شدن، در مواردی که توزیع داده‌ها نرمال نبود داده‌ها تبدیل شدن و در نهایت تمامی داده‌هایی که توزیع نرمال داشتند، با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS 9.3 (SAS Institute, 2011) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای بررسی اثر استفاده از اسیدهای پوشش دار و بدون پوشش در آب آشامیدنی از مقایسه متعامد و برای بررسی روند تغییرات خطی و غیرخطی از تجزیه تابعیت استفاده شد. به منظور بررسی صفات مربوط به عملکرد از طرح کاملاً تصادفی با زیر مشاهده و برای بررسی pH بخش‌های مختلف دستگاه گوارش و فلور میکروبی از طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و چهار تکرار و دو زیر مشاهده در هر تکرار استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها برای صفات مورد نظر از آزمون توکی استفاده شد ($P < 0.05$).

نتایج و بحث

افزودن ۵۰۰ گرم اسیدهای آلی پوشش دار شده در آب آشامیدنی سبب افزایش وزن پایان دوره، افزایش وزن روزانه و شاخص کارآیی اروپایی و کاهش ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد منفی در کل دوره پرورش شد ($P < 0.05$ ، جدول ۲)، اما اثری بر مصرف خوراک و آب آشامیدنی روزانه نداشت ($P > 0.05$). در مقایسه متعامد بین اسیدهای پوشش دار و بدون پوشش، جوجه‌هایی که اسید آلی پوشش دار مصرف کردند، آب و خوراک بیشتری نسبت به آنها بیایی که اسید آلی بدون پوشش دریافت کردند مصرف نمودند ($P < 0.05$ ، همچنین ضریب تبدیل کمتر و افزایش وزن و شاخص کارآیی اروپایی بیشتری داشتند ($P < 0.05$)). محققین معتقدند که افزایش pH دستگاه گوارش منجر به کاهش فعالیت آنزیم لیپاز روده شده که در نهایت سبب تکثیر پاتوژن‌ها می‌شوند. به منظور حل این مشکل، برخی محققین پیشنهاد کردند که اسیدهای آلی بهتر است به وسیله پوششی محافظت شوند تا خاصیت اسیدی کنندگی آنها تا رسیدن به مجرای روده حفظ شود. در این خصوص

آلی، اسید سبب از بین رفتن معده می‌شود و این اسیدها حداکثر تا سنگدان پیش خواهند رفت؛ اما اسیدهای آلی پوشش دار این مشکل را بر طرف می‌کنند. فعالیت لیپاز تولید شده از پانکراس، موجب هضم تری گلیسیرید و آزاد شدن اسیدهای آلی قرار گرفته در پوشش می‌شود و به تدریج محیط را اسیدی می‌کند و هنگامی که pH به کمتر از ۵ می‌رسد، لیپاز غیرفعال شده در نتیجه کمپلکس چربی و اسید آلی به بخش‌های بعدی روده منتقل می‌شود و در آنجا دوباره این وقایع تکرار می‌شود و به این ترتیب تمامی قسمت‌های دستگاه گوارش به طور تقریباً یکنواخت اسیدی خواهند شد. با پایین آمدن pH، رشد میکروارگانسیم‌های مضر در دستگاه گوارش کاهش می‌یابد و در مقابل رشد و بازده خوراک در جوجه‌ها بیشتر می‌شود (Shariatmadari and Mohiti-Asli, 2008). در یکی از مطالعات اخیر گزارش شده است که استفاده از ترکیب اسیدهای آلی پوشش دار شده و انسانس گیاهی به مقدار $0/3$ گرم در هر کیلوگرم خوراک جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش pH ژئنوم (P=0.79) و ایلنوم (P=0.78) نسبت به گروه شاهد شد (Yang et al., 2019). در تحقیق دیگری که به منظور مقایسه اسید لاکتیک پوشش دار شده و بدون پوشش در سطوح $0/2$ ، $0/4$ ، $0/6$ و $0/8$ درصد در جیره انجام شد، گزارش شد که استفاده از سطح $0/6$ درصد اسید آلی پوشش دار سبب کاهش pH ژئنوم نسبت به سایر تیمارها

جدول ۲- اثر افزودن سطوح مختلف ترکیبی از اسید آلی پوشش دار شده و بدون پوشش در آب آشامیدنی بر عملکرد جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 2. Effect of administrating different levels of the encapsulated and non-encapsulated blends of organic acids in drinking water on the performance of broilers at 42 days of age

| Treatments | Body weight (g) | Average daily gain (g) | Daily Feed intake (g) | Daily water intake (mL) | Feed conversion ratio | European efficiency factor |
|---|---------------------|------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|
| 0 mL (NC ¹) | 2751 ^b c | 64.5 ^b c | 112 | 215 | 1.74 | 355 ^b |
| 200 mL Acidifier 4+ (PC ²) | 2721 ^b c | 63.8 ^b c | 107 | 203 | 1.68 | 375 ^{ab} |
| 500 mL non-encapsulated OA ³ | 2655 ^c | 62.2 ^c | 111 | 202 | 1.79 | 345 ^b |
| 1000 mL non-encapsulated OA | 2693 ^b c | 63.1 ^b c | 113 | 200 | 1.79 | 350 ^b |
| 500 g encapsulated OA | 3084 ^a | 72.4 ^a | 122 | 238 | 1.69 | 426 ^a |
| 1000 g encapsulated OA | 3018 ^{ab} | 70.8 ^{ab} | 114 | 224 | 1.61 | 435 ^a |
| SEM | 51.1 | 1.2 | 1.7 | 4.4 | 0.023 | 11.1 |
| Effect | | | | P-value | | |
| Treatments | 0.034 | 0.035 | 0.199 | 0.060 | 0.142 | 0.032 |
| Non-encapsulated: Encapsulated | 0.003 | 0.004 | 0.186 | 0.009 | 0.026 | 0.002 |
| Non-encapsulated: Control | 0.460 | 0.464 | 0.864 | 0.061 | 0.392 | 0.710 |
| Encapsulated: Control | 0.037 | 0.037 | 0.371 | 0.274 | 0.204 | 0.018 |
| Linear non-encapsulated | 0.498 | 0.503 | 0.936 | 0.058 | 0.391 | 0.737 |
| Linear encapsulated | 0.044 | 0.044 | 0.444 | 0.324 | 0.167 | 0.018 |

¹NC: Negative control, ²PC: Positive control, ³OA: Organic acids

^{a-c} Means within the same column with different superscripts differ significantly (P<0.05).

گوشتشی سبب افزایش میانگین وزن و کاهش ضریب تبدیل خوراک نسبت به تیمار شاهد شد (Sajed et al., 2016). نتایج نشان می‌دهد که pH محتويات چينه‌دان در جوجه‌هایی که سطح ۱۰۰۰ گرم اسید آلی پوشش دار شده دریافت کردنده، نسبت به تیمار ۵۰۰ میلی‌لیتر اسید آلی بدون پوشش کاهش معنی‌داری داشت ($P<0.05$). افزودن سطوح مختلف اسید آلی پوشش دار و بدون پوشش در آب آشامیدنی جوجه‌های گوشتشی نسبت به تیمار شاهد منفی و مثبت سبب کاهش خطی pH پیش‌معده شد ($P=0.01$). در مقایسه‌ی متعامد بین اسید آلی پوشش دار و بدون پوشش، pH سنگدان جوجه‌هایی که اسید آلی پوشش دار دریافت کردنده نسبت به آنها نیایی که اسید آلی بدون پوشش مصرف کردنده کاهش بیشتری داشت ($P<0.05$). اسید آلی پوشش دار اثر بیشتری بر کاهش pH دئونوم جوجه‌های گوشتشی نسبت به اسیدهای آلی بدون پوشش، شاهد مثبت و منفی داشت ($P=0.94$). در جوجه‌هایی که سطوح مختلف اسید آلی پوشش دار را در آب آشامیدنی مصرف کردنده، pH ژئنوم به طور خطی کاهش یافت ($P<0.05$). مصرف سطوح مختلف اسیدهای آلی پوشش دار و بدون پوشش اثری بر pH ایلنوم و سکومها نداشت ($P>0.05$). جدول ۳.

از آنجایی که تولید اسید در معده طیور نسبت به اندازه معده بسیار زیاد است، در صورت استفاده آزاد از اسیدهای

آلی پوشش دار و بدون پوشش در سن ۴۲ روزگی نشان داد که در جوجه‌هایی که ۵۰۰ گرم اسید آلی پوشش دار یا ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اسیدهای آلی بدون پوشش در آب آشامیدنی دریافت نمودند، شمار باکتری /شرشیاکلی نسبت به تیمار شاهد منفی کاهش یافت ($P<0.05$). شمار باکتری /شرشیاکلی با افزایش سطح اسیدهای آلی بدون پوشش به طور خطی کاهش داشت ($P<0.05$). شمار باکتری کلی- فرم با افزایش سطح اسید آلی بدون پوشش به صورت خطی کاهش ($P<0.05$) و با اسیدهای آلی پوشش دار افزایش یافت. افزودن سطوح مختلف تیمارهای اسید آلی اثری بر جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس نداشت ($P>0.05$). اسیدهای آلی پوشش دار شده به دلیل رهایش آهسته اسیدهای آلی سبب اسیدی شدن یکنواخت دستگاه گوارش می‌شوند و در نتیجه کاهش pH دستگاه گوارش طیور، میکروب‌های فرستطلبه را از محیط حذف می‌کنند (Shariatmadari and Mohiti-Asli, 2008).

در تحقیقی که برای مقایسه اسید لاکتیک به فرم پوشش دار و آزاد صورت گرفت، گزارش شد که استفاده از سطح ۰/۶ درصد اسید لاکتیک پوشش دار شده در خوارک سبب کاهش جمعیت باکتری /شرشیاکلای و سالمونلا نسبت به فرم آزاد شد، ولی اثری بر جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس نداشت (Natsir et al., 2010). اسیدهای آلی بیشترین اثر باکتری‌کشی را بر باکتری‌های گرم منفی دارند.

شد (Natsir et al., 2010). در مطالعه‌ای گزارش شد که استفاده از مخلوطی از چند اسید آلی (فرمات آمونیوم، پروپیونات آمونیوم، اسید فرمیک و اسید پروپوپونیک)، pH محتویات ایلئوم جوجه‌های گوشتی را کاهش داد. علت آن این است که استفاده از ترکیب اسیدهای آلی نسبت به استفاده از آنها به صورت جدا به علت آثار همکوشی بین اسیدهای آلی و تنوع pKa اسیدهای مختلف، pH دستگاه گوارش را به میزان بیشتری کاهش می‌دهند (Denli et al., 2003). در تحقیقی گزارش شد که افزودن ترکیبی از اسیدهای آلی پروپوپونیک و فرمیک در سطوح صفر، ۰/۵، ۱/۵ درصد در جیره سبب کاهش pH دئونوم شد (Ghahri et al., 2008). افزودن ترکیبی از اسیدهای آلی پروپوپونیک و فرمیک در سطح ۰/۲ درصد سبب کاهش pH بخش‌های مختلف روده کوچک شد (Ghazalah et al., 2011). در مطالعه‌ای، افزودن سطوح ۱/۵ و ۳ درصد اسید سیتریک، استیک و لاکتیک به جیره جوجه‌های گوشتی، سبب کاهش pH در بخش‌های سنگدان، دئونوم، ژرزاوم و ایلئوم نسبت به تیمار شاهد شد که البته این تفاوت معنی‌دار نبود (Abdel-Fattah et al., 2008). اختلاف در نتایج آزمایش‌های مختلف ممکن است به دلیل اختلاف در نوع و مقدار اسیدهای استفاده شده باشد (Florou-Paneri et al., 2001).

نتایج مربوط به جمعیت برخی باکتری‌های ایلئوم جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با سطوح مختلف مخلوط اسیدهای

جدول ۳- اثر افزودن سطوح مختلف مخلوط اسیدهای آلی پوشش دار و بدون پوشش در آب آشامیدنی بر pH دستگاه گوارش جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 3. Effect of administrating different levels of the encapsulated and non-encapsulated blend of organic acids in drinking water on pH of the gastrointestinal tract of broilers at 42 days of age

| Treatments | Crop | Proventriculus | Gizzard | Duodenum | Jejunum | Ileum | Ceca |
|---|--------------------|-------------------|---------|----------|--------------------|-------|-------|
| 0 mL (NC ¹) | 4.74 ^{ab} | 5.34 ^a | 3.18 | 5.85 | 5.84 ^a | 5.84 | 6.11 |
| 200 mL Acidifier 4+ (PC ²) | 4.69 ^{ab} | 4.39 ^b | 3.46 | 5.78 | 5.66 ^{ab} | 5.66 | 5.79 |
| 500 mL non-encapsulated OA ³ | 5.14 ^a | 4.43 ^b | 3.45 | 5.88 | 5.49 ^{ab} | 6.46 | 5.44 |
| 1000 mL non-encapsulated OA | 4.48 ^{ab} | 4.15 ^b | 3.50 | 5.79 | 5.59 ^{ab} | 6.14 | 5.81 |
| 500 g encapsulated OA | 4.55 ^{ab} | 4.21 ^b | 3.29 | 5.76 | 5.51 ^{ab} | 5.98 | 5.96 |
| 1000 g encapsulated OA | 4.31 ^b | 3.91 ^b | 3.04 | 5.66 | 5.24 ^b | 6.38 | 5.98 |
| SEM | 0.066 | 0.090 | 0.058 | 0.026 | 0.050 | 0.110 | 0.045 |
| Effect | | | | P-value | | | |
| Treatments | 0.020 | 0.001 | 0.123 | 0.235 | 0.012 | 0.602 | 0.628 |
| Non-encapsulated: Encapsulated | 0.017 | 0.172 | 0.025 | 0.094 | 0.228 | 0.235 | 0.667 |
| Non-encapsulated: Control | 0.798 | 0.001 | 0.057 | 0.791 | 0.026 | 0.131 | 0.935 |
| Encapsulated: Control | 0.230 | 0.001 | 0.937 | 0.142 | 0.004 | 0.622 | 0.759 |
| Linear non-encapsulated | 0.654 | 0.001 | 0.055 | 0.668 | 0.037 | 0.184 | 0.918 |
| Linear encapsulated | 0.198 | 0.001 | 0.815 | 0.117 | 0.002 | 0.627 | 0.699 |

¹ NC: Negative control, ² PC: Positive control, ³ OA: Organic acids

^{a-b} Means within the same column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

گوشتشی سبب کاهش تعداد باکتری‌های گرم منفی ناحیه ایلئوم و سکوم در ۴۲ روزگی شد (Gunal *et al.*, 2006). در جوجه‌های تغذیه شده با جیره حاوی ترکیب اسیدهای پروپوپنیک، آمونیوم پروپوپنات، آمونیوم فرمات و فرمیک، جمعیت میکروبی باکتری‌های بیماری‌زا نظری/شریشیا کلی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت (Akyurek *et al.*, 2011).

نتیجه‌گیری کلی

مطابق یافته‌های این آزمایش می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزودن اسیدهای آلی پوشش دار به آب آشامیدنی هیچ اثر منفی بر کاهش مصرف خوراک و مصرف آب در جوجه‌های گوشتشی ندارد. افزایش سطح اسیدهای آلی پوشش دار در آب آشامیدنی، pH پیش‌معده و ژئنوم را در ۴۲ روزگی به‌طور خطی کاهش داد. شمار باکتری/شریشیا کلای در ایلئوم جوجه‌ای که سطح ۱۰۰۰ میلی لیتر اسید آلی بدون پوشش و سطوح مختلف اسید آلی پوشش دار دریافت کردند، کاهش یافت. همچنین ضریب تبدیل خوراک و شاخص کارآیی اروپایی با افزایش سطح اسیدهای آلی پوشش دار در آب آشامیدنی بهبود یافتند. این یافته‌ها به‌طور کلی نشان می‌دهند که افزودن سطح ۵۰۰ گرم اسید آلی پوشش دار در ۱ لیتر آب آشامیدنی برای بهبود عملکرد رشد جوجه‌های گوشتشی کفايت می‌کند. بنابراین استفاده از اسیدهای آلی پوشش دار شده سبب صرف‌جویی

این باکتری‌ها در مقایسه با باکتری لاکتوپاسیلوس مقاومت کمتری به محیط اسیدی دارد (Jordan *et al.*, 2001). بر اساس توضیحات بالا، در مطالعه‌ای گزارش شد که افزودن اسید گلوکونیک در سطوح ۲، ۴ و ۶ درصد و اسید سیتریک در سطح ۴ درصد به جیره جوجه‌های گوشتشی نر نژاد نیوهمشایر^a کلمبین باعث کاهش جمعیت بیفیدوباکتریوم‌ها و کاهش جمعیت باکتری اشتریشیا کلی، لاکتوپاسیلوس و کلستریدیوم پرفیجنز شد (Biggs and Parsons, 2008) در مطالعه‌ای با استفاده از سطوح صفر، ۰/۳، ۰/۲، ۰/۱ و ۰/۰ درصد اسید استیک در آب آشامیدنی گزارش شد که تعداد کل میکروب‌های هوایی و کلی فرم‌ها در محتویات ایلئوم جوجه‌ها (۱۴ و ۲۸ روزگی) تفاوتی نداشت (Akbari *et al.*, 2004). در تحقیق دیگری که آثار افزودن اسید استیک را در سطوح ۱ و ۲ درصد در آب آشامیدنی جوجه‌های سویه راس و کاب بررسی کردند گزارش شد که استفاده از این سطوح باعث کاهش جمعیت انتروكوکوس و اشتریشیا کلای و افزایش جمعیت لاکتوپاسیلوس در هر دو سویه در سن ۴۲ روزگی شد (Mustafa *et al.*, 2014). در مطالعه آثار ترکیب اسید آلی در سطوح ۱/۵، ۱/۵ و ۲ میلی‌لیتر، نشان داده شد که سطح ۲ میلی‌لیتر در لیتر آب آشامیدنی از این اسید آلی سبب کاهش جمعیت سالمونلا Khan *et al.*, (2013) در مطالعه دیگری گزارش شد که استفاده از سطح ۰/۲ درصد اسید پروپوپنیک و فرمیک در جیره جوجه‌های

جدول ۴- اثر افزودن سطوح مختلف ترکیبی از اسید آلی پوشش دار و بدون پوشش در آب آشامیدنی بر جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه‌های گوشتشی در سن ۴۲ روزگی

Table 4. Effect of administrating different levels of the encapsulated and non-encapsulated blend of organic acids in drinking water on ileal bacterial populations (\log_{10} CFU/g) of broilers at 42 days of age

| Treatments | <i>Lactobacillus</i> (CFU/g 10^5) | <i>Coliforms</i> (CFU/g 10^4) | <i>E. coli</i> (10^4 CFU/g) |
|---|---|-------------------------------------|-----------------------------------|
| 0 mL (NC ¹) | 2.40 | 2.62 | 2.49 ^a |
| 200 mL Acidifier 4+ (PC ²) | 2.17 | 2.51 | 2.35 ^{ab} |
| 500 mL non-encapsulated OA ³ | 2.27 | 2.43 | 2.36 ^{ab} |
| 1000 mL non-encapsulated OA | 2.14 | 1.96 | 2.10 ^b |
| 500 g encapsulated OA | 2.31 | 1.95 | 2.04 ^b |
| 1000 g encapsulated OA | 2.21 | 2.23 | 2.28 ^b |
| SEM | 0.041 | 0.084 | 0.050 |
| Effect | | P-value | |
| Treatments | 0.530 | 0.070 | 0.049 |
| Non-encapsulated: Encapsulated | 0.584 | 0.660 | 0.522 |
| Non-encapsulated: Control | 0.099 | 0.084 | 0.071 |
| Encapsulated: Control | 0.320 | 0.070 | 0.079 |
| Linear non-encapsulated | 0.072 | 0.043 | 0.035 |
| Linear encapsulated | 0.289 | 0.092 | 0.110 |

¹NC: Negative control, ²PC: Positive control, ³OA: Organic acids

^{a-b} Means within the same column with different superscripts differ significantly ($P<0.05$).

تشکر و قدردانی

در میزان مصرف اسیدهای آلی برای بدست آوردن نتایج

مطلوب عملکردی در جوجه‌های گوشتی می‌شود.

از گروه دانش بنیان ویوان جهت حمایت مالی از پایان نامه
و از شرکت توسعه بندا فرآور برای فراهم کردن اسید یافایر
+ استفاده شده در این آزمایش تشکر و قدردانی می‌شود.^۴

فهرست منابع

- Abdel-Fattah S. A., El-Sanhoury M. H., El-Medna N. M. and Abdul-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.
- Adil S., Banday T., Bhat G. A., Mir M. S. and Rehman M. 2010. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, intestinal histomorphology, and serum biochemistry of broiler chicken. Veterinary Medicine, 2010: 479485.
- Akbari M. R., Kermanshahi H. and 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, 8(3): 139 -148. (In Persian).
- Akyurek H., Levent Ozduven M., Agma Okur A., Koc F. and Ersin Samli H. 2011. The effects of supplementing an organic acid blend and/or microbial phytase to a cornsoybean based diet fed to broiler chickens. African Journal of Agricultural Research, 6(3): 642-649.
- Biggs P. and Parsons C. M. 2008. The effects of several organic acids on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. Poultry Science, 87(12): 2581-2589.
- Bunnik van B. A., Katsma W., Wagenaar J., Jacobs-Reitsma W. and De Jong M. 2012. Acidification of drinking water inhibits indirect transmission, but not direct transmission of *Campylobacter* between broilers. Preventive Veterinary Medicine, 105: 315-319.
- Chaveerach P., Keuzenkamp D. A., Lipman L. J. A. and 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(3): 330-334.
- Denli M., Okan F. and Celik K. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. Pakistan Journal of Nutrition, 2(2): 89-91.
- Florou-Paneri P., Christaki E., Botsoglou N. A., Kalousis A. and Spais A. B. 2001. Performance of broilers and the hydrogen ion concentration in their digestive tract following feeding of diets with different buffering capacities. Archiv Fur Geflgekund, 65(5): 236-240.
- Ghahri H., Shivazad M., Farhumand P., Egbal J. and Najafzadeh M. 2008. An investigation on the use of dietary organic acids on broiler performance. Pajouhesh and Sazandegi, 77: 26- 33. (In Persian).
- Ghazalah A. A., Atta A. M., Elkoub K., Moustafa M. E. L. and Shata F. H. 2011. Effect of dietary supplementation of organic acids on performance, nutrients digestibility and health of broiler chicks. International Journal of Poultry Science, 10(3):176-184.
- Gornowicz E. and Dziadek K. 2002. The effect of acidifying preparations added to compound feeds on management conditions of broiler chickens. Annals of Animal Science, 1(1): 93-96.
- Gunal M., Yayli G., Kaya O., Karahan N. and Sulak O. 2006. The effect of antibiotic growth promoter, probiotic or organic acid supplementation on performance, intestinal microflora and tissue of broiler. International Journal of Poultry Science, 5(2): 149-155.
- Hamid H., Shi H. Q., Ma G. Y., Fan Y., Li W. X., Zhao L. H., Zhang J. Y., Ji C. and Ma Q. G. 2018. Influence of acidified drinking water on growth performance and gastrointestinal function of broilers. Poultry Science, 97(10): 1-9.
- Hamed D. M. and Hassan A. M. A. 2013. Acids supplementation to drinking water and their effects on Japanese quails experimentally challenged with *Salmonella enteritidis*. Research in Zoology, 3: 15-22.
- Hassan H., Mohamed M., Youssef A. W. and Hassan E. R. 2010. Effect of using organic acids to substitute antibiotic growth promoters on performance and intestinal microflora of broilers. Asian-Australasian Journal of Animal Science, 23: 1348-1353.
- Helander I. M., - L. Alakomi H., Latva-Kala K., MattilaSandholm T., Pol I., Smid E. J., Gorris L. G. M. and von Wright A. 1998. Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 3590-3595.
- Jia G., Yan J. Y., Cai J. Y. and Wang K. N. 2010. Effects of encapsulated and non-encapsulated compound acidifiers on gastrointestinal pH and intestinal morphology and function in weaning piglets. Journal of Animal and Feed Sciences, 19(1), 81-92.
- Jordan F., Pattison M., Alexander D. and Faragher T. 2001. Poultry Diseases. Pp. 28-29.

- Khan S., Sultan A., Muhammad A., Imtiaz N., Mobashar M., Khan H., Saleem M. and Inam M. R. 2013. Lower ileal microflora and growth performance of broilers supplemented with organic acid blend (Aciflex®) during starter phase. Greener Journal of Agricultural Sciences, 3: 794-800.
- Menconi A., Kuttappan V. A., Hernandez-Velasco X., Urbano T., Matte F., Layton S., Kallapura G., Latorre J., Morales B. E., Prado O., Vicente J. L., Barton J., Andreatti Filho R. L., Lovato M., Hargis B. M. and Tellez G. 2014. Evaluation of a commercially available organic acid product on body weight loss, carcass yield, and meat quality during preslaughter feed withdrawal in broiler chickens: A poultry welfare and economic perspective. Poultry Science, 93(2): 448-455.
- Mustafa M. A. GH., Sulaiman M. and Salahaddin L. 2014. Effect of acetic acid added to drinking water of two broiler strains on performance and small intestine histological. Diyala Journal of Agricultural Sciences, 6(1): 1-8.
- Natsir M. H., Sjofjan O., Umam K., Manab A. and Widodo E. 2010. Effects of liquid and encapsulated lactic acid in broiler diets on performances, intestinal characteristics and intestinal microflora. The Journal of Poultry Science, 47(3), 240-243.
- Nguyen D. H., Lee K. Y., Mohammadigheisar M. and Kim I. H. 2018. Evaluation of the blend of organic acids and medium-chain fatty acids in matrix coating as antibiotic growth promoter alternative on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, excreta microflora, and carcass quality in broilers. Poultry Science, 97(12): 1-8.
- Olarve J. P., Luis E. S. and Mangabat C. G. 2007. The effect of different levels of an acidifier in the diet on the performance of broilers. Philippine Journal of Veterinary Medicine, 44: 14-19.
- Pirgozliv V., Murphy T. C., Owens B., George J. and McCann M. E. E. 2008. Fumaric and sorbic acid as additives in broiler feed. Research in Veterinary Science, 84(3): 387-394.
- Qodrati Kateshmshiry J., Saadatfar Z. and Zarghi H. 2016. Effect of organic acid and probiotic on small intestinal histomorphometry in broiler chickens. Proceedings of the 2nd International Conference on Sustainable Development, Strategies and Challenges, Tabriz, Iran. Pp. 1-12. (In Persian).
- Raftari M., Jalilian A. S., Fa Fau A., Abdulamir As Fau - Son R., Son R Fau - Sekawi Z., Sekawi Z Fau - Fatimah A. B. and Fatimah A. B. 2009. Effect of organic acids on *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* contaminated meat. The Open Microbiology Journal 3: 121-127.
- Rodjan P., Soisuwan K., Thongprajukaew K., Theapparat Y., Khongthong S., Jeenkeawpieam J. and Salaeharae T. 2017. Effect of organic acids or probiotics alone or in combination on growth performance, nutrient digestibility, enzyme activities, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 102(2): 1-10.
- Roser U. 2006. Effects of organic acids in liquid and solid forms on the survival rate of *Salmonella* in pelleted compound feed after recontamination. Journal of Immunology, 82: 12-19.
- Roostaei-Alimehr M., Moayedi Ahmadsaraei H. and Haghhighian-Roudsari M. 2014. Effect of increasing energy of diet and adding acetic acid on the performance and intestinal microflora of broilers. Iranian Veterinary Journal, 9(4): 44- 54. (In Persian).
- Roth N., Hofacre Gh., Zitz U., Mathis G. F., Moder K., Doupovec B., Berghouse R. and Domig K. J. 2019. Prevalence of antibiotic-resistant *E. coli* in broilers challenged with a multi-resistant *E. coli* strain and received ampicillin, an organic acid-based feed additive or a synbiotic preparation. Poultry Science, 98(6): 1-10.
- Sajed M., Jafari M. and Khojasteh S. 2016. Effect of dietary prebiotic and organic acid on growth performance, carcass characteristics and intestinal morphology of broiler chickens. Animal Production Research, 5(2): 25-35. (In Persian).
- Samanta S., Haldar S. and Kumar Ghosh T. 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: 1-8.
- SAS Institute. 2011. SAS/STAT User Guide. Version 9.3 edition. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shariatmadari F and Mohiti-Asli M. 2008. Additives in animal feeds. Tarbiat Modares University Press. P. 413. (In Persian).
- Shiravani Z., Aliakbarlu J. and Tajik H. 2016. Antibacterial activity of acetic and lactic acid against *Listeria monocytogenes* and their effect on the intracellular constituent release. Feyz, 21(2): 162-169.
- Wang K., Chang Z., Ma Y., Lei C., Wang J., Zhu T., Liu H., Zuo Y. and Li X. 2009. Study on solvent extraction of propionic acid from simulated discharged water in vitamin B12 production by anaerobic fermentation. Bioresource Technology, 100: 2878-2882.
- Yang X., Liu Y., Yan F., Yang C. and Yang X. 2019. Effects of encapsulated organic acids and essential oils on intestinal barrier, microbial count, and bacterial metabolites in broiler chickens. Poultry Science, 98(7): 2858-2865.