

Research Paper

The Effects of Chlorogenic Acid on Antioxidant Status, Immunity, Inflammatory Cytokines, some Biochemical Parameters, Mortality, and Performance in Broilers

Mokhtar Fathi¹  and Parastoo Mardani²

1- Associate Professor, Department of Animal Science, Payame Noor University, Tehran, Iran,
(Corresponding author: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir)

2- Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Received: 15 February, 2025

Revised: 9 April, 2025

Accepted: 11 May, 2025

Extended Abstract

Background: In today's conditions of industrial poultry breeding, especially broilers, stress is a critical problem that affects poultry performance and brings economically significant mortality. Environmental, nutritional, and internal stressors often cause a decrease in performance and endanger health. Stresses often lead to oxidative stress, and through the induction of lipid peroxidation, reduction of antioxidant capacity, inflammation, etc., it ultimately decreases performance and increases mortality in broiler chickens. Therefore, they have suggested that the administration of antioxidants during stress is probably effective in reducing the problems caused by the stress of stressful factors to maintain the health and production performance of flocks in broiler farms. Chlorogenic acid, as one of the most abundant phenolic acid compounds in nature, is an ester of caffeic acid with quinic acid, which is found naturally in various plant species and has several biological functions, such as antioxidant, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, anti-diabetic, and anticancer activities. The special phenolic structure endows chlorogenic acid with good free radical-scavenging activities, and can effectively scavenge various free radicals, effectively inhibit cellular lipid peroxidation, and beneficially regulate cell membrane stability. Experimental and clinical evidence has confirmed the antioxidant effects of chlorogenic acid in vivo and in vitro through direct antioxidant activity and/or its regulation on signal transduction pathways involved in cellular antioxidant defense. The antioxidant property of chlorogenic acid makes it possible to use it as a promising and green antioxidant in animal feed. It has been shown that food supplements with chlorogenic acid can improve the growth performance and antioxidant capacity of intestinal mucosa by increasing the activity of antioxidant enzymes, preventing lipid peroxidation, and activating antioxidant signaling pathways. In broilers, chlorogenic acid supplementation has been reported to increase growth performance, reduce inflammatory response, prevent intestinal damage, improve intestinal mucosal barrier function, and improve oxidative damage. However, little is known about the antioxidant activity of chlorogenic acid in broilers. Therefore, the current research was designed to evaluate chlorogenic acid effects on growth performance, antioxidant status and immunity, and some biochemical parameters of broiler chickens.

Methods: A total of 300 one-day-old male broiler chickens (45 ± 1.2 g) from the commercial strain Ross (308) were distributed in four experimental treatments (five replicates and 15 chickens per experimental unit). Experimental treatments included 1- a control group (fed with a basic diet), 2- CGA-500 group (fed with a basic diet + 500 mg/kg chlorogenic acid), 3- CGA-1000 group (fed with a basic diet + 1000 mg/kg of chlorogenic acid), and 4- CGA-1500 group (fed with a basic diet + 1500 mg/kg of chlorogenic acid). The chlorogenic acid used in this research was produced by Shanghai China Company with a purity of 98.12%, which was added to flour feed in the form of powder. The light, temperature, ventilation, humidity, and hygiene programs were set the same for all the experimental treatments and according to the recommendations of the Ross 308 strain for different periods. The feed intake and body weight of the birds in each experimental unit were measured at the age of 42 days, and performance indicators (food intake, weight gain, and feed conversion ratio) were calculated from the age of 1 to 42 days. At the age of 42 days, two chickens were randomly selected from each cage, and a 2 ml blood sample was used to prepare serum from the wing vein using special syringes to measure blood biochemical indices. Liver tissue samples were immediately washed in distilled water, and after drying, they were immediately placed in clear freezer plastic bags and frozen at -20 °C.



Serum antioxidant parameters, including glutathione peroxidase and superoxide dismutase enzymes, were also measured using Nonad Salamat brand kits. To determine the concentration of malondialdehyde in serum, the amount of light absorption in the samples was determined by the colorimetric method using the device. Liver levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), and TNF- α (tumor necrosis factor- α) were quantitatively measured by the commercial kits of Crystal De Shanghai, China, and by the sandwich ELISA method. Serum enzymes, including aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase, were measured using Padco brand kits. Serum levels of G and M immunoglobulin were measured using Diasorin S.P.A., Italy kits. Serum levels of lipid parameters, triglyceride, cholesterol, LDL, and HDL were measured using a quantitative diagnosis kit (Pars Azmoun Company). The collected data were statistically analyzed using the GLM procedure of SAS software version 1/9 (SAS, 2003) in the form of a completely randomized design. Mortality data were transformed using the $\sqrt{(X+1)}$ square root transformation before analysis. To compare the means, Duncan's multi-range test was used at a significance level of 5%. The method of independent comparisons (Orthogonal) was used to determine the linear and quadratic effects of different CGA levels.

Results: The inclusion of chlorogenic acid caused a significant increase in feed intake and weight gain and a significant decrease in the feed conversion ratio and total mortality ($P < 0.05$). The best performance belonged to the 1000 mg/kg of chlorogenic acid treatment compared to the other treatments. In addition, chlorogenic acid supplementation at levels of 500 and 1000 mg significantly improved the antioxidant capacity (increased activity of glutathione peroxidase and decreased malondialdehyde activity) in serum and the liver ($P < 0.05$). The administration of 500 and 1000 mg of chlorogenic acid significantly reduced serum levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, and TNF- α ($P < 0.05$).

Conclusion: Decreased serum levels of aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, triglyceride, cholesterol, and LDL, and increased HDL and immunoglobulin G and M were also observed in CGA-1000 and CGA-1500 treatments ($P < 0.05$). In general, the results of this research show that using 1000 mg/kg of chlorogenic acid in the diet of chickens may improve both growth performance and antioxidant and inflammatory indices.

Keywords: Antioxidant, Broiler chickens, Chlorogenic acid, Inflammation, Immune, Growth performance.

How to Cite This Article: Fathi, M., & Mardani, P. (2025). The Effects of Chlorogenic Acid on Antioxidant Status, Immunity, Inflammatory Cytokines, some Biochemical Parameters, Mortality, and Performance in Broilers. *Res Anim Prod*, 16(3), 83-94. DOI: 10.61882/rap.2025.1488



مقاله پژوهشی

تاثیر اسید کلروژنیک بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، ایمنی، سیتوکین‌های التهابی، برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی، تلفات و عملکرد در جوجه‌های گوشتی

مختار فتحی^۱ و پرستو مردانی^۲

۱- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir)

۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۱

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۰
صفحه ۸۳ تا ۹۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: در شرایط امروزه پرورش صنعتی طیور و به‌ویژه جوجه‌های گوشتی، استرس یک مشکل حیاتی است که بر عملکرد طیور تأثیر می‌گذارد و ضررهای اقتصادی قابل توجهی را به‌همراه دارد. عوامل استرس‌زا از انواع محیطی، تغذیه‌ای و داخلی اغلب باعث کاهش عملکرد تولیدی و تولیدمثلی و به خطر افتادن سلامت می‌شوند. استرس‌ها اغلب منجر به استرس اکسیداتیو می‌شوند و از طریق القاء پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش توان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، التهاب و در نهایت منجر به کاهش عملکرد و افزایش تلفات در جوجه‌های گوشتی می‌شود. بنا بر این، پیشنهاد نموده‌اند که احتمالاً تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها در طول استرس در کاهش مشکلات ناشی از استرس عوامل استرس‌زا در جهت حفظ سلامت و عملکرد تولید گله در مزارع مرغ گوشتی موثر است. اسید کلروژنیک به‌عنوان یکی از بیشترین ترکیبات اسیدفنولیکی موجود در طبیعت، یک استر از کافئیک‌اسید با اسیدکوئینیک است که به‌طور طبیعی در انواع گونه‌های مختلف گیاهی یافت می‌شود و دارای عملکردهای بیولوژیکی متعددی مانند آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، ضد ویروسی، فعالیت‌های ضد التهابی، ضد دیابتی و ضد سرطانی است. ساختار فنلی ویژه اسید کلروژنیک را با فعالیت‌های خوب مهار رادیکال‌های آزاد اعطا می‌کند و می‌تواند به‌طور مفیدی رادیکال‌های آزاد مختلف را از بین ببرد، به‌طور موثر پراکسیداسیون لیپیدی سلولی را مهار کند و به‌طور مفیدی ثبات غشای سلولی را تنظیم کند. شواهد تجربی و بالینی اثرات آنتی‌اکسیدانی اسید کلروژنیک را در داخل بدن و همچنین در شرایط آزمایشگاهی از طریق فعالیت آنتی‌اکسیدانی مستقیم و یا تنظیم آن بر روی مسیرهای انتقال سیگنال درگیر در دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول تایید کرده‌اند. ویژگی آنتی‌اکسیدانی اسید کلروژنیک امکان استفاده از آن را به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان امیدوارکننده و سبز در خوراک دام فراهم می‌کند. نشان داده شده است که مکمل‌های غذایی با اسید کلروژنیک می‌توانند عملکرد رشد و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مخاط روده را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ آنتی‌اکسیدانی بهبود بخشند. در جوجه‌های گوشتی، مکمل‌های اسید کلروژنیک برای افزایش عملکرد رشد، کاهش پاسخ التهابی، جلوگیری از آسیب روده، بهبود عملکرد سد مخاطی روده، و بهبود آسیب اکسیداتیو گزارش شده‌اند. با این حال، اطلاعات کمی در مورد عملکرد آنتی‌اکسیدانی اسید کلروژنیک در جوجه‌های گوشتی وجود دارد. بنا بر این، پژوهش حاضر با هدف ارزیابی کلروژنیک‌اسید بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی‌اکسیدانی، ایمنی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی جوجه‌های گوشتی طراحی شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه جنس نر ($45 \pm 1/2$ گرم) از سویه تجاری راس (۳۰۸) در چهار تیمار آزمایشی (پنج تکرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمایشی) توزیع شدند. تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (تغذیه‌شده با جیره پایه)، ۲- گروه CGA-500 (تغذیه‌شده با جیره پایه + ۵۰۰ میلی‌گرم اسید کلروژنیک)، ۳- گروه CGA-1000 (تغذیه‌شده با جیره پایه + ۱۰۰۰ میلی‌گرم اسید کلروژنیک)، و ۴- گروه CGA-1500 (تغذیه‌شده با جیره پایه + ۱۵۰۰ میلی‌گرم اسید کلروژنیک) بودند. اسید کلروژنیک استفاده‌شده در این تحقیق تولید شرکت شانگهای چین با خلوص ۹۸/۱۲ درصد بود که به‌صورت پودر به خوراک آردی اضافه شد. برنامه نوری، دمای، تهویه، رطوبت و بهداشتی برای تمام تیمارهای آزمایشی یکسان و مطابق پیشنهادات سویه راس ۳۰۸ برای دوره‌های زمانی مختلف تنظیم شدند. مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیری و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه گردیدند. در ۴۲ روزگی، از هر قفس دو جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال توسط سرنگ‌های مخصوص خون‌گیری و یک نمونه ۲ میلی‌لیتر برای تهیه سرم جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون استفاده شد. نمونه‌های بافت کبد بلافاصله در آب مقطر شستشو و بعد از خشک کردن توسط پارچه تیترون تمیز، بلافاصله در پلاستیک‌های فریزر روشن قرار گرفتند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم، شامل آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، با استفاده از کیت‌های برند نوند سلامت اندازه‌گیری شدند. برای تعیین میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه تعیین گردید. مقادیر هر کدام از سیتوکین‌های (IL-6) interleukin-6 و interleukin-1 β (IL-1 β) و TNF- α : tumor necrosis factor- α در بافت کبد به‌وسیله کیت‌های تجاری شرکت کریستال دی شانگهای چین و از روش الیزای ساندویچی کمی اندازه‌گیری شدند. آنزیم‌های سرم شامل آسپارات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز با استفاده از کیت‌های برند Padco اندازه‌گیری شدند. سطوح سرمی ایمونوگلوبولین‌های G و M با استفاده از کیت‌های شرکت (DIASORIN S.P.A. Italia) مورد سنجش قرار گرفتند. مقادیر سرمی پارامترهای لیپیدی تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL با استفاده از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون سنجش گردیدند. داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS.2003) در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌های مربوط به تلفات، قبل از تجزیه و تحلیل، با استفاده از تبدیل جذری $\sqrt{X+1}$ تبدیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. از روش مقایسات مستقل (Orthogonal) برای تعیین اثرات خطی و درجه دوم اثرات سطوح مختلف CGA استفاده شد.

یافته‌ها: تجویز اسید کلروژنیک سبب افزایش معنی‌دار افزایش خوراک مصرفی و وزن حاصله و کاهش معنی‌دار ضریب تبدیل خوراک و تلفات کل شد ($P < 0/05$). بهترین عملکرد در مقایسه با سایر تیمارها، مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک بود. علاوه بر این، مکمل‌سازی اسید کلروژنیک در سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم به‌طور معنی‌داری سبب بهبود توان آنتی‌اکسیدانی (افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز و کاهش مالون‌دی‌آلدئید) سرم و کبد شد ($P < 0/05$). همچنین، تجویز اسید کلروژنیک به میزان ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم به‌طور معنی‌داری سطوح کبدی سیتوکین‌های التهابی IL-1 β ، IL-6 و TNF- α را کاهش داد ($P < 0/05$). کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، تری‌گلیسرید، کلسترول، و افزایش HDL و ایمونوگلوبولین‌های G و M در تیمارهای CGA-1000 و CGA-1500 مشاهده شد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری کلی: نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که استفاده از اسید کلروژنیک سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شد. بهترین عملکرد در مقایسه با سایر تیمارها مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک بود. علاوه بر این، مکمل‌سازی اسید کلروژنیک سبب بهبود توان آنتی‌اکسیدانی سرم و کبد و تنظیم سطوح کبدی سیتوکین‌های پیش‌التهابی شد و با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی کبد سبب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های غیرعملکردی سرم گردید. همچنین اسید کلروژنیک با افزایش ترشح ایمونوگلوبولین‌های سرم سبب بهبود توان ایمنی جوجه‌های گوشتی شد.

واژه‌های کلیدی: اسید کلروژنیک، ایمنی، آنتی‌اکسیدان، التهاب، جوجه‌های گوشتی، عملکرد رشد

مقدمه

با توجه به افزايش تقاضا براي پروتئين حيواني، به حداكثر رساندن توليدات طیور بسيار مهم است. از اين رو، جوجه هاي گوشتي امروزي براي حداكثر رشد و راندمان غذايي انتخاب ژنتيكي شده اند كه منجر به مشكلات قابل توجهي در اين صنعت شده است و آن ها را در برابر انواع مختلف استرس حساس كرده است (Lee et al., 2019; Fathi et al., 2023 a, b). استرس يك پاسخ بيولوژيكي به محرک هاي بيروني يا دروني است كه تعادل فيزيولوژيكي طبيعي يك ارگانيسم را مختل مي كند (Elitok, 2018). توليد تجاري طیور با طيف وسيعي از استرس ها مواجه است كه مي تواند بر توليد، عملکرد توليد مثلي و سلامت كلي پرندگان تأثير منفي بگذارد. اين تنش ها شامل عوامل محيطي، تغذيه اي و فيزيولوژيكي هستند (Surai & Fisinin, 2016). طیور در معرض انواع مختلف عوامل استرس زاي محيطي مانند نوسانات دمائي، محدوديت خوراك، تراكم، آلاينده ها و غيره هستند (Tsiouris et al., 2018; Zhang et al., 2018). دستكاري تغذيه اي در طول استرس در کاهش مشكلات ناشي از استرس عوامل استرس زا در جهت حفظ سلامت و عملکرد توليد گله در مزارع مرغ گوشتي مؤثر است. اين مكمال ها به دليل خواص تغذيه اي و دارويي، عوارض جانبي بسيار كم، قابليت هاي أنتي اكسيداني و تقويت كننده سيستم ايمني، توانايي حفظ تعادل اسيد و باز و بهبود عملکرد توليد در جوجه هاي گوشتي ثابت شده اند (Fathi et al., 2023 a, b).

علاوه بر اين تحقيقات زيادي نشان مي دهند كه مكمال سازي جيره جوجه هاي گوشتي با تركيبات حاوي أنتي اكسيدان هاي طبيعي، از جمله دارچين (Fathi et al., 2018) و يا محرک افزايش توان أنتي اكسيداني بدن از جمله دستگاه گوارش (Fathi et al., 2019)، مي تواند سبب افزايش ايمني و بهبود عملکرد توليد در اين پرندگان شود.

اسيد كلورونيك (CGA^1) كه به نام اسيد ۵-وكافئويل كوئينيك نيز شناخته مي شود، يك استر از كافئيك اسيد با اسيد كوئينيك است كه به طور طبيعي در انواع گونه هاي مختلف گياهي يافت مي شود و داراي عملكردهاي بيولوژيكي متعددي مانند أنتي اكسيدان، ضد ميكروبي، ضد ويروسي، ضد التهابي، ضد ديابتي و ضد سرطاني است (Tajik et al., 2017; Lu et al., 2020). ساختار فنلي ويژه CGA سبب ايجاد فعاليت مهار راديكال هاي آزاد در آن است و مي تواند به طور مفيدي راديكال هاي آزاد مختلف را از بين ببرد، به طور مؤثر پراكسيداسيون ليپيدي سلولي را مهار كند و به طور مفيدي ثبات غشاي سلولي را تنظيم كند (Liang & Kitts, 2015). شواهد تجربی و باليني اثرات أنتي اكسيداني CGA را در داخل بدن و در شرايط آزمايشگاهي از طريق فعاليت أنتي اكسيداني مستقيم و يا نقش تنظيمي آن بر روي مسيرهاي انتقال سيگنال در گير در دفاع أنتي اكسيداني سلولي تأييد كرده اند (Shi et al., 2016; Bao et al., 2018). ويژگي أنتي اكسيداني CGA امکان استفاده از آن را به عنوان يك أنتي اكسيدان اميدوار كننده

و سبز در خوراك دام فراهم مي كند. نشان داده شده است كه مكمال هاي غذايي با CGA مي توانند عملکرد رشد و ظرفيت أنتي اكسيداني مخاط روده را در جوجه هاي گوشتي با افزايش فعاليت آنزيم هاي أنتي اكسيداني، جلوگيري از پراكسيداسيون ليپيدي و فعال كردن مسيرهاي سيگنالينگ أنتي اكسيداني بهبود بخشند (Liu et al., 2022a, b). در جوجه هاي گوشتي، مكمال هاي CGA براي افزايش عملکرد رشد، کاهش پاسخ التهابي، جلوگيري از اسيد روده، بهبود عملکرد سد مخاطي روده و بهبود اسيد اكسيداتيو در جوجه هاي گوشتي كه با كوكسيدياك يا كلستريديوم پرفرنجنس به چالش كشيده شده اند، گزارش شده اند (Zhang et al., 2020; Liu et al., 2022a). با اين حال، اطلاعات كمی در مورد استفاده از CGA بر عملکرد و وضعيت ايمني، التهابي و أنتي اكسيداني در جوجه هاي گوشتي در شرايط نرمال پرورشي وجود دارد. بنا بر اين، تحقيق حاضر با هدف ارزيابي مكمال اسيد كلورونيك بر عملکرد رشد، وضعيت أنتي اكسيداني، ايمني، التهابي و وضعيت برخي از فراسنجه هاي بيوشيميايي جوجه هاي گوشتي طراحي شد.

مواد و روش ها

تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتي يك روزه جنس نر ($45 \pm 1/2$ گرم) از سويه تجاري راس (۳۰۸) در چهار تيمار آزمايشي (پنج تكرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمايشي) توزيع گرديدند. پرنده ها در پن هايي با ابعاد 110×150 سانتيمتر و ارتفاع ۸۰ سانتيمتر تا سن ۴۲ روزگي روي بستر پرورش يافتند. جيره هاي آزمايشي در هر مرحله (آغازين، ۱۰-۰ روزگي، رشد، ۲۴-۱۱ روزگي و پاياني، ۴۲-۲۵ روزگي) براساس راهنماي پرورش جوجه گوشتي راس ۳۰۸ بر پايه ذرت-سويا و با استفاده از تركيب شيميايي اقلام خوراكي طبق جداول انجمن تحقيقات ملي آمريكا (۱۹۹۴) توسط نرم افزار جيره نويسي UFFDA تنظيم شدند. مواد خوراكي تشكيل دهنده و تركيبات شيميايي جيره هاي آزمايشي در جدول ۱ آورده شده اند.

تيمارهاي آزمايشي شامل: ۱- گروه شاهد (تغذيه شده با جيره پايه)، ۲- گروه CGA-500 (تغذيه شده با جيره پايه + ۵۰۰ ميلي گرم در كيلوگرم اسيد كلورونيك)، ۳- گروه CGA-1000 (تغذيه شده با جيره پايه + ۱۰۰۰ ميلي گرم در كيلوگرم اسيد كلورونيك)، و ۴- گروه CGA-1500 (تغذيه شده با جيره پايه + ۱۵۰۰ ميلي گرم در كيلوگرم اسيد كلورونيك) بودند. اسيد كلورونيك استفاده شده در اين تحقيق توليد شركت شانگ هاي چين (Shaanxi Lonier Herb Bio-Technology Co., Ltd) با خلوص ۹۸/۱۲ درصد بود كه به صورت پودر به خوراك آردی اضافه شد.

برنامه نوري به صورت يك ساعت تاريخي و ۲۳ ساعت روشنايي بود. در طول دوره آزمايش، پرندگان داراي دسترسي آزاد به آب و خوراك (آردی) بودند. برنامه دمائي، تهويه و رطوبت براي تمام تيمارهاي آزمايشي يكسان و مطابق پيشنهادات سويه راس ۳۰۸ براي دوره هاي زماني مختلف تنظيم گرديدند. برنامه واكسيناسيون بيماري نيوكاسل در

مالون‌دی‌آلدئید به‌روش تیوباریتوریک اسید، مجموعه رنگی حاصل در طول موج ۵۳۲ نانومتر سنجش شد (Fathi *et al.*, 2022).

غلظت‌های کبدی سیتوکین‌های پیش التهابی شامل: اینترلوکین ۶ (IL-6) (Interleukin-6)، اینترلوکین ۱-بتا (IL-1 β) (Interleukin-1 β) و فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF- α : tumor necrosis factor- α) تجاری شرکت کریستال دی‌شانگ‌های چین و از روش الیزای ساندویچی کمی اندازه‌گیری گردیدند (Abd El-Wahab *et al.*, 2019). آنزیم‌های سرم شامل آسپارات آمینوترانسفراز (AST⁴) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT⁵) با استفاده از کیت‌های برند Padco و دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-VIS i3 Spectrophotometer-Hanon) اندازه‌گیری شدند (Fathi *et al.*, 2023a). سطوح سرمی ایمونوگلوبولین‌های G (IgG) و M (IgM) با استفاده از کیت‌های خاص طبق پروتکل سازنده (DIASORIN S.P.A. Italia) مورد سنجش قرار گرفتند (Fathi *et al.*, 2023b). مقادیر سرمی پارامترهای لیپیدی تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و HDL با استفاده از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون و به‌روش فتومتریک سنجش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری به‌کار گرفته‌شده در این تحقیق به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و بر اساس مدل آماری زیر بود: $Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$ که در آن Y_{ij} مشاهده مربوط به تکرار j از تیمار i ، μ میانگین مشاهدات کل آزمایش، T_i اثر تیمار i و e_{ij} خطای آزمایش مربوط به تکرار j از تیمار i هستند. داده‌های جمع‌آوری شده بعد از آزمون نرمالیت به استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ (SAS.2003) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. داده‌های مربوط به تلفات، قبل از تجزیه و تحلیل، با استفاده از تبدیل جذری $\sqrt{X+1}$ تبدیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد. همچنین، از روش مقایسات مستقل (Orthogonal) برای تعیین اثرات خطی و درجه دوم اثرات سطوح مختلف CGA استفاده شد.

روزهای ۷، ۱۷ و ۲۸ روزگی و واکسیناسیون بیماری گامبورو در ۱۴ روزگی در آب آشامیدنی انجام شد.

مقدار خوراک مصرفی و وزن بدن پرندگان هر واحد آزمایشی در سن ۴۲ روزگی اندازه‌گیری و شاخص‌های عملکرد (خوراک مصرفی، افزایش وزن و ضریب تبدیل) برای سن یک تا ۴۲ روزگی محاسبه شدند. در ۴۲ روزگی، از هر قفس دو جوجه به‌طور تصادفی انتخاب و از سیاهرگ بال توسط سرنگ‌های مخصوص خون‌گیری و یک نمونه ۲ میلی‌لیتر برای تهیه سرم جهت اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی خون استفاده شد. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند، سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (HERMLE-Z323K، آلمان) شدند و سرم جدا شد. نمونه‌های سرم بلافاصله بعد از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر تحت دمای درجه ۲۰- سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مربوطه نگهداری شدند. بعد از انجام خون‌گیری، پرنده‌ها کشتار شدند و از بافت کبد نمونه‌برداری به‌عمل آمد. نمونه‌های بافت کبد بلافاصله در آب مقطر شستشو و بعد از خشک‌کردن توسط پارچه تیترون تمیز، بلافاصله در پلاستیک‌های فریزر روشن قرار گرفتند و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. فراسنجه‌های آنتی‌اکسیدانی سرم شامل آنزیم‌های گلوکاتیون پراکسیداز (GSH-Px¹) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD²) با استفاده از کیت‌های برند نوند سلامت به‌کمک دستگاه الیزا ریدر (BIOTEK ELx800, US) اندازه‌گیری شدند (Fathi *et al.*, 2023a). برای تعیین میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA³) سرم، میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV 1600 PC, Shimadzu, Japan) در طول موج ۴۸۵ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها تعیین شد (Fathi *et al.*, 2023b). برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید، ابتدا پروتئین‌های نمونه با استفاده از محلول تری‌کلرواستیک اسید رسوب داده شدند و با عمل سانتریفیوژ جدا گردیدند. محلول صاف‌شده رویی با اسید تیوباریتوریک در حرارت ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به‌مدت ۵۰ دقیقه واکنش داده شد. برای تعیین

⁴ Aspartate transaminase

⁵ Alanine transaminase

¹ Glutathione peroxidase

² Superoxide dismutase

³ Malondialdehyde

جدول ۱- اجزا و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی

Table 1. Ingredients and chemical compositions of experimental diets

پایانی (۲۵-۴۲ روزگی) Finisher (25-42 d)	رشد (۱۱-۲۴ روزگی) Grower (11-24 d)	آغازین (۱-۱۰ روزگی) Starter (0-10 d)	اجزای جیره (درصد) Ingredients (%)
57.56	51.63	47.53	ذرت (۸ درصد پروتئین خام) Corn 8% CP
32.35	37.99	42.35	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal, 44%CP
6.29	6.24	5.54	روغن سویا Soybean oil
1.05	1.12	1.20	سنگ آهک (۳۸ درصد کلسیم) Limestone, 38% Ca
1.34	1.56	1.79	دی‌کلسیم فسفات (۲۱ درصد کلسیم) Di-calcium phosphate, 21%Ca
0.25	0.25	0.25	مکمل ویتامینه Vitamin premix ^a
0.25	0.25	0.25	مکمل معدنی Mineral premix ^b
0.40	0.40	0.40	کلراید سدیم NaCl
0.28	0.32	0.37	دی‌ال-متیونین (۹۹ درصد) DL-Methionine, 99%
0.22	0.22	0.28	ال-لیزین هیدروکلراید (۷۸ درصد) L-Lysine HCL, 78%
0.00	0.02	0.05	تروئونین (۹۸/۵ درصد) Threonine, 98.5%
			ترکیب مواد مغذی محاسبه شده Nutrient Composition (calculated)
3218	3082	2990	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)
19.3	21.3	23	پروتئین خام (درصد) Crude protein, %
0.79	0.87	0.96	کلسیم (درصد) Calcium (Ca), %
0.361	0.409	0.456	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus, %
0.16	0.16	0.16	سدیم (درصد) Sodium (Na), %
0.58	0.64	0.71	متیونین (درصد) Methionine, %
0.89	0.89	1.07	متیونین+سیستئین (درصد) +cysteine, %Methionine
1.17	1.30	1.46	لیزین (درصد) Lysine, %
1.30	1.45	1.56	آرژینین (درصد) Arginine, %
0.78	0.87	0.96	تروئونین (درصد) Threonine, %
0.29	0.32	0.35	تریپتوفان (درصد) Tryptophan, %

غلظت ویتامین در هر کیلوگرم جیره: ریتینول، ۱۳/۵۰ میلی‌گرم. کوله‌کلسیفرول، ۴/۱۵ میلی‌گرم؛ توکوفرول استات، ۳۲/۰۰ میلی‌گرم؛ ویتامین K3، ۲ میلی‌گرم؛ تیامین، ۲ میلی‌گرم؛ ریوفلاوین، ۶۰۰ میلی‌گرم؛ بیوتین، ۰/۱ میلی‌گرم؛ کوپالامین، ۰/۰۱۵ میلی‌گرم؛ پیراکسیدین، ۳ میلی‌گرم؛ نیاسین، ۱۱/۰۰ میلی‌گرم؛ دی‌پانتوتنیک‌اسید، ۲۵/۰؛ منادیون سدیم بی‌سولفات، ۱/۱۰؛ اسیدفولیک، ۱/۰۲؛ کولین کلرید، ۲۵۰ میلی‌گرم؛ نیکوتین آمید، ۵ میلی‌گرم.

^b غلظت مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره: پانتوتنات کلسیم، ۲۵ میلی‌گرم. آهن (از سولفات آهن)، ۳۵ میلی‌گرم؛ مس (از سولفات مس)، ۳.۵ میلی‌گرم؛ منگنز (از سولفات منگنز)، ۶۰ میلی‌گرم؛ روی (از سولفات روی)، ۳۵ میلی‌گرم؛ I (از یدات کلسیم)، ۰.۶ میلی‌گرم؛ Se (از سلنیت سدیم)، ۰.۳ میلی‌گرم.

^a Vitamin concentration per kilogram of diet: retinol, 13.50 mg; cholecalciferol, 4.15 mg; tocopherol acetate, 32.00 mg; vitamin K3, 2 mg; thiamin, 2 mg; riboflavin, 6.00 mg; biotin, 0.1 mg; cobalamin, 0.015 mg; pyroxidine, 3 mg; niacin, 11.00 mg; d-pantothenic acid, 25.0; menadione sodium bisulphate, 1.10; folic acid, 1.02; choline chloride, 250 mg; nicotinamide, 5 mg.

^b Mineral concentrations per kilogram of diet: calcium pantothenate, 25 mg; Fe (from ferrous sulphate), 35 mg; Cu (from copper sulphate), 3.5 mg; Mn (from manganese sulphate), 60 mg; Zn (from zinc sulphate), 35 mg; I (from calcium iodate), 0.6 mg; Se (from sodium selenite), 0.3 mg.

تاثیر سطوح مختلف اسید کلروژنیک بر وضعیت

آنتی‌اکسیدانی سرم و کبد

داده‌های موجود در جدول ۳ تاثیر سطوح مختلف CGA بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم و کبد را نشان می‌دهند. مکمل‌سازی سطوح مختلف CGA به‌طور معنی‌داری سبب بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم و کبد شد به‌طوری‌که بالاترین سطح سرمی و کبدی آنزیم‌های GSH-Px و کمترین سطح MDA مربوط به تیمارهای ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم CGA در کیلوگرم خوراک بودند ($P < 0.05$). اختلاف معنی‌داری بین اثرات سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی سرم و کبد مشاهده نشد ($P > 0.05$).

نتایج و بحث

تاثیر سطوح مختلف اسید کلروژنیک بر عملکرد رشد و تلفات

نتایج تاثیر تیمارهای آزمایشی بر فراسنجه‌های عملکردی و تلفات (جدول ۲) نشان دادند که تجویز مکمل CGA در هر سه سطح به‌طور معنی‌داری سبب افزایش غیرخطی خوراک مصرفی و افزایش وزن حاصله و همزمان سبب کاهش غیرخطی ضریب تبدیل خوراک شد به‌طوری‌که بهترین تاثیر مثبت بر عملکرد مربوط به سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CGA بود ($P < 0.05$). علاوه بر این، مکمل‌سازی CGA در سطوح مختلف سبب کاهش خطی تلفات شد به‌طوری‌که کمترین تلفات در طول دوره آزمایش مربوط به سطح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CGA بود ($P < 0.05$).

جدول ۲- اثر مکمل‌سازی اسید کلروژنیک بر عملکرد و تلفات جوجه‌های گوشتی در سن ۴۲ روزگی

Table 2. Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on performance and mortality of broiler chickens at day 42

تلفات (%) Mortality (%)	ضریب تبدیل خوراک FCR	خوراک مصرفی (گرم) FI (g)	وزن بدن (گرم) BWG (g)	تیمارها Treatments
3.00 ^a	1.77 ^a	2250 ^b	3960 ^d	Control
1.00 ^b	1.78 ^a	2452 ^b	4364 ^a	CGA-500
0.00 ^c	1.68	2587 ^a	4346 ^a	CGA-1000
0.00 ^c	1.69 ^b	2610 ^a	4410 ^a	CGA-1500
0.001	0.02	59	95	خطای استاندارد میانگین SEM
0.019	0.010	0.001	0.010	خطی خطی Linear
0.321	0.011	0.011	0.021	درجه دوم درجه دوم Quadratic

حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها هستند ($P < 0.05$).a-c: Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

BWG, body weight gain; FI, feed intake; FCR, feed conversion ratio, CGA-500, CGA-1000, and CGA-15000; chickens in these groups fed a basal diet supplemented with 500, 1000, and 1500 mg/kg chlorogenic acid, respectively.

جدول ۳- اثرات مکمل اسید کلروژنیک جیره بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی

Table 3. Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on the antioxidant status of broiler chickens

مالون‌دی‌آلدئید (نانومول در میلی‌لیتر) MDA (nmol/mL)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌لیتر) SOD (U/mL)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در میلی‌لیتر) GSH-Px (U/mL)	تیمارها Treatments
2.62 ^a	122.25 ^c	165.83 ^c	Control
1.96 ^b	143.81 ^b	189.43 ^{bc}	CGA-500
1.82 ^c	156.21 ^a	194.62 ^{ab}	CGA-1000
1.86 ^c	159.75 ^a	212.62 ^a	CGA-1500
0.09	6.20	7.10	خطای استاندارد میانگین SEM
0.150	0.001	0.010	خطی خطی Linear
0.091	0.190	0.200	درجه دوم درجه دوم Quadratic

مالون‌دی‌آلدئید (نانومول در میلی‌گرم پروتئین) MDA (nmol/mg protein)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) SOD (U/mg protein)	گلوتاتیون پراکسیداز (واحد در میلی‌گرم پروتئین) GSH-Px (U/mg protein)	کبد Liver
1.55 ^a	115.20	19.03 ^b	Control
0.89 ^b	119.05	21.30 ^{ab}	CGA-500
0.78 ^b	122.60	23.22 ^a	CGA-1000
0.80 ^b	114.62	25.43 ^a	CGA-1500
0.15	3.92	1.29	خطای استاندارد میانگین SEM
0.190	0.290	0.011	خطی خطی Linear
0.013	0.191	0.300	درجه دوم درجه دوم Quadratic

حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها هستند ($P < 0.05$).a-c: Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

GSH-Px, glutathione peroxidase; SOD, Superoxide dismutase; MDA, Malondialdehyde; CGA-500, CGA-1000, and CGA-15000; chickens in these groups fed a basal diet supplemented with 500, 1000, and 1500 mg/kg chlorogenic acid, respectively.

معنی‌داری کاهش یافتند ($P < 0.05$). در مورد IL-6 و TNF- α ، اختلاف معنی‌داری بین سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم مشاهده نشد ($P > 0.05$)، اما در مورد سیتوکین IL-1 β ، کمترین سطح مربوط به تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CGA بود.

تأثیر سطوح مختلف اسید کلروژنیک بر سطوح سیتوکین‌های پیش‌التهابی کبدی داده‌های موجود در جدول ۴ نشان می‌دهند که سطوح کبدی سیتوکین‌های پیش‌التهابی کبدی به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر مکمل‌سازی با سطوح مختلف CGA قرار گرفته‌اند به‌طوری‌که با افزایش سطح CGA در جیره جوجه‌های گوشتی، سطوح کبدی سیتوکین‌های IL-1 β ، IL-6 و TNF- α به‌طور

تأثیر اسید کلروژنیک بر وضعیت آنتی‌اکسیدانی، ایمنی، سیتوکین‌های التهابی ۹۰

و IgG و کاهش ALT و AST در سرم شد (جدول ۵) ($P < 0.05$)
 <). بالاترین سطوح ایمونوگلوبولین‌ها و کمترین سطوح آنزیم-
 های کبدی در سطح ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CGA
 مشاهده گردیدند.

**تأثیر سطوح مختلف اسید کلروژنیک بر سطوح
 ایمونوگلوبولین‌ها و آنزیم‌های ALT و AST در سرم**
 نتایج تأثیر سطوح مختلف CGA بر فراسنجه‌های ایمنی
 (IgG و IgM) و همچنین آنزیم‌های کبدی ALT و AST نشان
 دادند که مکمل‌سازی CGA به طور خطی سبب افزایش IgM

جدول ۴- اثرات مکمل اسید کلروژنیک جیره بر سطوح سیتوکین‌های التهابی کبدی جوجه‌های گوشتی
 Table 4. Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on levels of hepatic inflammatory cytokines
 in broiler chickens

تیماها Treatments	ایتروکین-1β (نانوگرم/میلی‌گرم پروتئین) IL-1β (ng/mg protein)	ایتروکین-6 (نانوگرم/میلی‌گرم پروتئین) IL-6 (ng/mg protein)	فاکتور نکروز توموری آلفا (نانوگرم/میلی‌گرم پروتئین) TNF-α (ng/mg protein)
Control	19.56 ^a	291.23 ^a	31.69 ^d
CGA-500	18.90 ^{ab}	286.02 ^a	30.25 ^a
CGA-1000	16.29 ^b	251.01 ^b	25.15 ^b
CGA-1500	11.10 ^c	246.21 ^b	23.09 ^b
خطای استاندارد میانگین SEM	1.50	2.51	1.01
خطی خطای احتمال P Value	0.001	0.001	0.010
درجه دوم Quadratic	0.280	0.190	0.090

حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها هستند ($P < 0.05$).
 a-c: Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$). IL-1β, interleukin-1β; IL-6, interleukin-6; TNF-α, tumor necrosis factor-alpha; CGA-500, CGA-1000, and CGA-15000; chickens in these groups fed a basal diet supplemented with 500, 1000, and 1500 mg/kg of chlorogenic acid, respectively.

جدول ۵- اثرات مکمل اسید کلروژنیک جیره بر پارامترهای بیوشیمیایی سرم جوجه‌های گوشتی
 Table 5. Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on serum biochemical parameters of broiler
 chickens

تیماها Treatments	آلانین ترانس آمیناز (واحد/لیتر) ALT (U/L)	اسپارتات ترانس آمیناز (واحد/لیتر) AST (U/L)	ایمونوگلوبولین G (واحد/میلی‌لیتر) Ig G (U/mL)	ایمونوگلوبولین G (واحد/میلی‌لیتر) Ig M (U/mL)
Control	4.63 ^a	255.40 ^a	5.35 ^b	1.48 ^d
CGA-500	4.26 ^a	254.68 ^a	6.88 ^a	1.98 ^b
CGA-1000	3.61 ^b	238.20 ^b	7.00 ^a	2.25 ^a
CGA-1500	2.97 ^c	213.85 ^c	5.62 ^b	1.66 ^c
خطای استاندارد میانگین SEM	0.95	2.20	0.08	0.05
خطی خطای احتمال P Value	0.010	0.010	0.001	0.001
درجه دوم Quadratic	0.390	0.410	0.002	0.001

حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها هستند ($P < 0.05$).
 a-c: Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).
 ALT: Alanine transaminase; AST: Aspartate transaminase; IgG, Immunoglobulin G; IgM, Immunoglobulin M. CGA-500, CGA-1000, and CGA-15000; chickens in these groups fed a basal diet supplemented with 500, 1000, and 1500 mg/kg of chlorogenic acid, respectively.

جدول ۶- اثرات مکمل اسید کلروژنیک جیره بر پارامترهای لیپیدی سرم جوجه‌های گوشتی
 Table 6. Effects of dietary chlorogenic acid supplementation on serum lipids parameters of broiler chickens

تیماها Treatments	کلسترول (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) TG (mg/dl)	لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) LDL (mg/dl)	لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی‌گرم/دسی‌لیتر) HDL (mg/dl)
Control	69.48 ^a	196.05 ^a	48.82 ^a	7.69 ^b
CGA-500	66.17 ^{ab}	100.49 ^b	48.13 ^a	9.22 ^{ab}
CGA-1000	64.03 ^b	74.03 ^c	50.45 ^a	11.12 ^a
CGA-1500	40.14 ^c	51.25 ^d	30.34 ^b	12.60 ^a
خطای استاندارد میانگین SEM	2.01	3.25	1.59	1.01
خطی خطای احتمال P Value	0.001	0.010	0.001	0.021
درجه دوم Quadratic	0.410	0.461	0.390	0.190

حروف غیر همسان در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها هستند ($P < 0.05$).
 a-c: Means within each column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).
 TG, triglyceride; LDL, low density lipoprotein; HDL, high density lipoprotein; CGA-500, CGA-1000, and CGA-15000; chickens in these groups fed a basal diet supplemented with 500, 1000, and 1500 mg/kg of chlorogenic acid, respectively.

تاثیر سطوح مختلف اسیدکلروژنیک بر سطوح فراسنجه‌های لیپیدی سرم

نتایج (جدول ۶) نشان دادند که فراسنجه‌های لیپیدی سرم از قبیل کلسترول، تری‌گلیسیرید، LDL و HDL سرم به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر مکمل‌سازی با CGA در سطوح استفاده شده در این تحقیق قرار گرفتند، به‌طوری‌که همه سطوح CGA در مقایسه با تیمار شاهد، سبب کاهش معنی‌دار کلسترول، تری‌گلیسیرید، LDL و افزایش HDL سرم شدند ($P < 0.05$). بیشترین تأثیر کاهش بر کلسترول، تری‌گلیسیرید، و LDL مربوط به تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم CGA بود. تجویز CGA در هر دو سطح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ سبب افزایش HDL سرم شد ($P < 0.05$).

در پرورش صنعتی طیور و به‌ویژه جوجه‌های گوشتی، استرس یک مشکل حیاتی است که بر عملکرد طیور تأثیر می‌گذارد و ضررهای اقتصادی قابل‌توجهی را به‌همراه دارد. عوامل استرس‌زا از انواع محیطی، تغذیه‌ای و داخلی اغلب باعث کاهش عملکرد تولیدی و تولیدمثلی و به‌خطر افتادن سلامت می‌شوند. استرس‌ها اغلب منجر به استرس اکسیداتیو می‌شوند و از طریق القاء پرکسیداسیون لیپیدها، کاهش توان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، التهاب و ... در نهایت منجر به کاهش عملکرد و افزایش تلفات در جوجه‌های گوشتی می‌شود (Chen et al., 2021a). بنا بر این، پیشنهاد نموده‌اند که احتمالاً تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها در طول استرس در کاهش مشکلات ناشی از استرس عوامل استرس‌زا در جهت حفظ سلامت و عملکرد تولید گله در مزارع مرغ گوشتی مؤثر است (Fathi et al., 2023 a,b). اثرات مفید مکمل CGA به‌عنوان یک مکمل آنتی‌اکسیدانی در رژیم غذایی بر عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت استرس اکسیداتیو (Zha et al., 2023; Song et al., 2024) و استرس گرمایی (Zhao et al., 2019) گزارش شده‌اند. علاوه بر این، گزارش شده است که تجویز مکمل CGA عملکرد رشد و ایمنی در جوجه‌های گوشتی تحت استرس اکسیداتیو القاء شده با دگرآمتازون را بهبود بخشید (Liu et al., 2022a, b). همچنین، تاثیر مثبت مکمل‌سازی جیره غذایی خوک‌های تازه از شیر گرفته‌شده با CGA گزارش شده است (Chen et al., 2020, 2018b; Zhang et al., 2018, 2020). بهبود عملکرد رشد پرندگان تغذیه شده با CGA می‌تواند تا حد زیادی با توان آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد (Zha et al., 2023). قبلاً هم محققان بسیاری گزارش کردند که عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تغذیه‌شده با انواع مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی بهبود یافت (Fathi et al., 2022, 2023a, b). از طرفی، اخیراً نشان داده‌اند که گنجاندن CGA در بهبود افزایش وزن جوجه‌های گوشتی تحت استرس اکسیداتیو مؤثر است. پیشنهاد کرده‌اند که CGA سبب افزایش توان آنتی‌اکسیدانی، کاهش آسیب اکسیداتیو و بهبود پاسخ التهابی در بافت روده جوجه‌های گوشتی می‌شود. همچنین مشاهده کرده‌اند که تجویز CGA به جیره غذایی جوجه‌های گوشتی تحت استرس اکسیداتیو سبب افزایش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و کاهش جمعیت باکتری‌های مضر روده و در نهایت سبب بهبود گوارش و جذب مواد غذایی در روده شد (Chen et al., 2021a). علاوه بر این،

گزارش کرده‌اند که مکمل‌سازی CGA در جیره غذایی خوک‌ها سبب بهبود وضعیت ارتفاع ویلی‌ها در بخش‌های دوازدهم و ژژنوم روده کوچک شد و در نتیجه هضم و جذب را در این حیوان بهبود بخشید (Chen et al., 2018a, b). به علاوه، مشاهده کرده‌اند که CGA از طریق افزایش اتصالات محکم در روده کوچک باعث بهبود عملکرد روده می‌شود (Tan et al., 2023). همچنین، در تحقیقی نشان دادند که مکمل‌سازی CGA در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور معنی‌داری ترشح آنزیم پروتئاز از پانکراس را افزایش داد و سبب بهبود ضریب تبدیل خوراک شد (Ghafarifarsani et al., 2023).

نشان داده‌اند که مکمل‌سازی جیره غذایی جوجه‌های گوشتی با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌طور مؤثری مرگ و میر را کاهش داد و عملکرد رشد را بهبود بخشید (Fathi et al., 2022). در مطالعه حاضر، عملکرد رشد و مرگ و میر در گروه‌های مکمل CGA بهبود یافت که احتمالاً به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی CGA است. اثرات آنتی‌اکسیدانی CGA توسط بسیاری از محققان گزارش شده‌اند (Liang & Kitts, 2015; Bao et al., 2018; Chen et al., 2018a, b; Zhang et al., 2018; Zhang et al., 2020; Liu et al., 2022a).

مطابق با نتایج این تحقیق، گنجاندن CGA سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های GSH-Px و CAT و کاهش تولید MDA در سرم و مخاط روده کوچک خوک‌ها شد (Chen et al., 2018 a, b). همچنین، بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در خوکچه‌های از شیر گرفته با مکمل‌سازی جیره با CGA مشاهده شد (Zhang et al., 2018). ساختار شیمیایی CGA شامل یک حلقه آروماتیک و یک حلقه آلیسیک، با یک زنجیره مزدوج و پنج گروه هیدروکسیل متصل به دو حلقه است (Saqib et al., 2016). نشان داده شده است که CGA به‌طور مؤثر رادیکال‌های آزاد فعال مانند آنیون‌های سوپراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل را در شرایط آزمایشگاهی از بین می‌برد (Liang & Kitts, 2015). تشکیل ترکیب اضافی رادیکال و انتقال اتم هیدروژن دو مکانیسم بالقوه برای فعالیت آنتی‌اکسیدانی آزمایشگاهی CGA در محیط‌های اسیدی و خنثی هستند، در حالی که انتقال الکترون و از دست دادن متوالی پروتون مکانیسم آنتی‌اکسیدانی احتمالی CGA با نرخ بسیار بالا در محیط بازی هستند (Tosovic et al., 2017). بنا بر این، تأثیر اصلی CGA بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی را می‌توان تا حدی با خواص آنتی‌اکسیدانی مستقیم آن عمدتاً به دلیل ساختار فنلی آن توضیح داد (Shin et al., 2017). علاوه بر این، نشان داده شده است که CGA و ایزومرهای آن به دلیل برهمکنش‌های ساختاری خاص خود، مستقیماً می‌توانند سبب القای بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدانی شوند (Liang & Kitts, 2015; Bao et al., 2018; Shi et al., 2018; Liang et al., 2019; Han et al., 2019).

استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های اکسیژن طی استرس گرمایی (Fathi et al., 2023b)، استرس فیزیولوژیک (Fathi et al., 2023a, c) و استرس گرمایی (Ohtsu et al., 2015) می‌توانند سبب القاء پاسخ‌های التهابی شوند. علاوه بر این، پیشنهاد شده است که بیان mRNA برای سینتوکلین‌های پیش‌التهابی در طول استرس اکسیداتیو ناشی از گرما افزایش

می‌یابد و منجر به پاسخ التهابی می‌شود که ممکن است منجر به ایجاد پاس‌های التهابی شود (Ohtsu *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، CGA نقش مثبتی در کاهش پاسخ التهابی جوجه‌های گوشتی داشت، به طوری که سبب کاهش سیتوکین‌های پیش‌التهابی $IL-6$ ، $TNF-\alpha$ و $IL-1\beta$ شد (جدول ۴). حدس بر این است که احتمالاً CGA، از طریق مستقیم سبب تأثیر بر پروتئین‌های درگیر با سیتوکین‌های پیش‌التهابی و تغییر بیان ژن‌های مربوط به سیتوکین‌های پیش‌التهابی شود (Zha *et al.*, 2023). علاوه بر این، گزارش کرده‌اند که مکمل CGA باعث کاهش بیان ژن‌های $IL-1\beta$ و $TNF-a$ در دوازدهه مرغ‌های جوانی شد که در معرض استرس گرمایی قرار گرفتند (Chen *et al.*, 2018 a). در تحقیق دیگر، گزارش شد که CGA دارای اثرات ضد التهابی در جوجه‌های گوشتی در چالش با کوکسیدیا بود (Zhang *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022a). علاوه بر این، احتمالاً CGA از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش پاسخ‌های التهابی و بهبود سطح سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود زیرا قبلاً محققان زیادی گزارش کرده‌اند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند سبب بهبود وضعیت التهابی در جوجه‌های گوشتی شوند (Shi *et al.*, 2018; Zeng *et al.*, 2020; Fathi *et al.*, 2023a,b). قبلاً نشان داده‌اند که در جوجه‌های تحت تنش اکسیداتیو القایی توسط تنش سرمایی، سطوح سرمی آنزیم‌های ALT و AST افزایش یافتند و همزمان توسط مکمل‌سازی جیره با ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سطوح این آنزیم‌ها به نرمال برگشتند. بنا بر این، پیشنهاد شد که احتمالاً ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از طریق اثرات محافظتی روی بافت سلول‌های کبدی مانع از تخریب هیاتوسیت‌ها و مانع از سرازیری آنزیم‌های کبدی به جریان عمومی خون می‌شوند (Arab *et al.*, 2006; Fathi *et al.*, 2022a, 2022b). اثرات آنتی‌اکسیدانی CGA هم در این تحقیق و هم توسط محققان قبلی (Liang & Kitts, 2015; Bao *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2018a, b; Zhang *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022a) گزارش شده‌اند. موافق با نتایج این تحقیق، تجویز CGA در جیره ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان سبب کاهش سرمی آنزیم‌های ALT و AST شد. حدس بر این است که CGA از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی روی هیاتوسیت‌ها سبب کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی شده است (Ghafarifarsani

2023). علاوه بر این، نقش مثبت CGA بر سطوح ایمونوگلوبولین‌های سرم در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان قبلاً گزارش شده است (Ghafarifarsani *et al.*, 2023). افزایش سطوح ایمونوگلوبولین‌های سرم ناشی از مصرف CGA نیز ممکن است به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی باشد. محققان زیادی تأیید نموده‌اند که ترکیبات فنولیک می‌توانند همزمان با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جوجه‌های گوشتی، سبب افزایش سطح ایمونوگلوبولین‌های این پرندگان شوند (Abd El-Hack *et al.*, 2021; Fathi *et al.*, 2023c; Fathi *et al.*, 2024).

موافق با تحقیق حاضر، تجویز CGA در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به طور معنی‌داری سبب کاهش سطح لیپیدهای سرم شد (Ghafarifarsani *et al.*, 2023). کاهش تری‌گلیسیرید و کلسترول سرم ناشی از مکمل CGA ممکن است به اثر آنتی‌اکسیدانی CGA نسبت داده شود. کاهش کلسترول توسط ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با مهار بیوسنتز کلسترول است، زیرا سنتز کلسترول در ابتدای مسیر بیوسنتز آن، یعنی هیدروکسیل متیل‌گلوکوتایون کوآنزیم یک ردوکتاز (HMG-COA)، اعمال می‌شود. واکنش تبدیل HMG-COA به موالونات تحت نیکوتین آمیدآدنین دی‌نوکلئوتید فسفات (NADPH و HMG-COA) ردوکتاز انجام می‌شود. نشان داده شده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با کاهش فعالیت HMG-COA، تولید موالونات را کاهش می‌دهند. علاوه بر این، نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی می‌توانند سطح سرمی HDL را افزایش و LDL را کاهش دهند (Weinbrenner *et al.*, 2004). علاوه بر این، نشان داده شده است که ترکیبات فنولی می‌توانند سطح تری‌گلیسیرید سرم را با افزایش جریان تری‌گلیسیرید از خون به داخل سلول‌ها و با کاهش تولید لیپاز پانکراس کاهش دهند (Ustundag & Ozdogan, 2015).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که استفاده از مکمل اسید کلروژنیک (CGA) در جوجه‌های گوشتی احتمالاً از طریق اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی سبب بهبود عملکرد و کاهش تلفات می‌شود. به طور کلی، نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که احتمالاً استفاده از سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم CGA در کیلوگرم خوراک در جیره جوجه‌های گوشتی مفید باشد.

References

- Arab, H., Jamshidi, A., Rassuli, R., Shams, G., & Hassanzadeh, M. H. (2006). Generation of hydroxyl radicals during ascites experimentally induced in broilers. *British Poultry Science*, 47, 216-222. doi: 10.1080/00071660600611102.
- Abd El-Wahab, A., Mahmoud, R.E., Ahmed, M. F., & Salama, M. F. (2019). Effect of dietary supplementation of calcium butyrate on growth performance, carcass traits, intestinal health and pro-inflammatory cytokines in Japanese quails. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(6), 1768-75.
- Abd El-Hack, M. E., Alaidaroos, B. A., Farsi, R. M., Abou-Kassem, D. E., El-Saadony, M. T., Saad, A. M., ... & Ashour, E. A. (2021). Impacts of supplementing broiler diets with biological curcumin, zinc nanoparticles and *Bacillus licheniformis* on growth, carcass traits, blood indices, meat quality and cecal microbial load. *Animals*, 11(7), 1878.

- Bao, L., Li, J., Zha, D., Zhang, L., Gao, P., Yao, T., & Wu, X. (2018). Chlorogenic acid prevents diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress and inflammation through modulation of the Nrf2/HO-1 and NF-κB pathways. *International Immunopharmacology*, 54, 245-253.
- Chen, J., Yu, B., Chen, D., Huang, Z., Mao, X., Zheng, P., ... & He, J. (2018a). Chlorogenic acid improves intestinal barrier functions by suppressing mucosa inflammation and improving antioxidant capacity in weaned pigs. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 59, 84-92.
- Chen, J., Li, Y., Yu, B., Chen, D., Mao, X., Zheng, P., Luo, J., & He, J. (2018b). Dietary chlorogenic acid improves growth performance of weaned pigs through maintaining antioxidant capacity and intestinal digestion and absorption function. *Journal of Animal Science*, 96:1108–1118.
- Chen, F., Zhang, H., Zhao, N., Yang, X., Du, E., Huang, S., ... & Wei, J. (2021). Effect of chlorogenic acid on intestinal inflammation, antioxidant status, and microbial community of young hens challenged with acute heat stress. *Animal Science Journal*, 92(1), e13619.
- Chen, Y. P., Gu, Y.F., Zhao, H. R., & Zhou, M. Y. (2021b). Dietary squalene supplementation alleviates diquat-induced oxidative stress and liver damage of broiler chickens. *Poultry Science*, 100: 100919.
- Elitok, B. (2018). Importance of stress factors in poultry. *Juniper Online Journal of Case Studies*, 7, 20–22. doi: 10.19080/JOJCS.2018.07.555723.
- Fathi, M., Haydari, M., & Tanah, T. (2016a). Influence of Dietary Aspirin on Growth Performance, Antioxidant Status, and Mortality due to Ascites in Broiler Chickens. *Poultry Science Journal*, 4(2), 139-146. doi: 10.22069/PSJ.2016.10701.1178.
- Fathi, M., & Haydari, T. (2016b). Effects of atenolol on growth performance, mortality due to ascites, antioxidant status and some blood parameters in broilers under induced ascites. *Iranian Journal of Animal Science Research*, 8 (2), 329-339. doi:10.22067/IJASR.V8I2.47188. [In Persian]
- Fathi, M., Nik Guo, A., & Mehri, M. (2018). Effects of Cinnamon Powder Levels on Performance, Antioxidant Status, Meat Oxidative Stability, Enzymes Activity and Some Blood Parameters in Broiler Chickens. *Research on Animal Production (Scientific and Research)*, 8(17), 18-25. doi:10.29252/rap.8.17.18. [In Persian]
- Fathi, M., Tanha, T., & Ahmadi, M. (2019). Effect of Supplementation of Prebiotics of Mannan Oligosaccharide (MOS) on Growth Performance, Blood Parameters and Mortality Rate of Male Broiler Chicks under Induced Ascites by Sodium Chloride. *Research on Animal Production (Scientific and Research)*, 10 (25), 8-15. doi:10.29252/rap.10.25.8. [In Persian]
- Fathi, M., Tanha, T., & Saedyan, S. (2022). Influence of dietary lycopene on growth performance, antioxidant status, blood parameters and mortality in broiler chicken with cold-induced ascites. *Archive Animal Nutrition*, 8,1-11. doi: 10.1080/1745039X.2022.2046451.
- Fathi, M., Saedyan, S., Baghaeifar, Z., & Varzandeh, S. (2023a). Chitosan oligosaccharides in the diet of broiler chickens under cold stress had anti-oxidant and anti-inflammatory effects and improved hematological and biochemical indices, cardiac index, and growth performance. *Livestock Science*, 276, 105338. doi: 10.1016/j.livsci.2023.105338.
- Fathi, M., Saedyan, S., & Kaoosi, M. (2023). Effect of melatonin on oxidative stress, inflammation cytokines, biochemical parameters and growth performance in broiler chicken under induced stress by dexamethasone. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A—Animal Science*, 72(3-4), 149-157.
- Fathi, M., Hosayni, M., Alizadeh, S., Zandi, R., Rahmati, S., & Rezaee, V. (2023). Effects of black cumin (*Nigella Sativa*) seed meal on growth performance, blood and biochemical indices, meat quality and cecal microbial load in broiler chickens. *Livestock Science*, 274, 105272.
- Fathi, M., Hosayni, M., Alizadeh, S., Zandi, R., Rahmati, S., Saeidian, S., Shirazi Fard, M., Rezaee, V., Zarrinkavyani, K., & Mardani, P. (2024). Effects of chicory (*Cichorium intybus* L.) distillation wastewater on antioxidant status, immune response, caecal microbial population, growth performance and meat quality in broiler chickens. *Livestock Science*, 282, 105442. DOI: 10.1016/j.livsci.2024.105442.
- Ghafariarsani, H., Nedaee, S. H., Hoseinifar, S. H. & Doan, V. H. (2023). Effect of Different Levels of Chlorogenic Acid on Growth Performance, Immunological Responses, Antioxidant Defense, and Disease Resistance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles. *Aquaculture Nutrition*, Article ID 3679002, 13. doi: 10.1155/2023/3679002
- Han, D., Gu, X., Gao, J., Wang, Z., Liu, G., Barkema, H. W., & Han, B. (2019). Chlorogenic acid promotes the Nrf2/HO-1 anti-oxidative pathway by activating p21Waf1/Cip1 to resist dexamethasone-induced apoptosis in osteoblastic cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 137, 1-12.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2015). Role of chlorogenic acids in controlling oxidative and inflammatory stress conditions. *Nutrients*, 8, 16.
- Liang, N., Dupuis, H. J., Yada, R. Y., & Kitts, D. D. (2019). Chlorogenic acid isomers directly interact with Keap1-Nrf2 signaling in Caco-2 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 457, 105–118
- Lee, M. T., Lin, C. W., & Lee, T. T. (2019). Potential crosstalk of oxidative stress and immune response in poultry through phytochemicals - a review. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 32, 309–319.
- Lu, H., Tian, Z., Cui, Y., Liu, Z., & Ma, X. (2020). Chlorogenic acid: a comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19, 3130–3158.

- Liu, H., Chen, P., Lv, X., Zhou, Y., Li, X., Ma, S., & Zhao, J. (2022a). Effects of chlorogenic acid on performance, anticoccidial indicators, immunity, antioxidant status, and intestinal barrier function in coccidia-infected broilers. *Animals*, 12, 963.
- Liu, H., Li, S., Shi, Y., Zhou, K., Zhang, Y., Wang, Y., & Zhao, J. (2022b). Chlorogenic acid improves growth performance and intestinal health through autophagy-mediated nuclear factor erythroid 2-related factor 2 pathway in oxidatively stressed broilers induced by dexamethasone. *Poultry Science*, 101, 102036.
- Ohtsu, H., Yamazaki, M., Abe, H., Murakami, H., & Toyomizu M. (2015). Heat stress modulates cytokine gene expression in the spleen of broiler chickens. *Japanese Poultry Science* *Japanese Poultry Science*, 52(4), 282–287. DOI: 10.2141/jpsa.0150062
- Saqib, M., SIqbal, S., Mahmood, A., & Akram, R. (2016). Theoretical investigation for exploring the antioxidant potential of chlorogenic acid: a density functional theory study. *International Journal of Food Properties*, 19, 745–751.
- Shin, H. S., Satsu, H., Bae, M. J., Totsuka, M., & Shimizu, M. (2017). Catechol groups enable reactive oxygen species scavenging-mediated suppression of PKD-NFkappaB-IL-8 signaling pathway by chlorogenic and caffeic acids in human intestinal cells. *Nutrients*, 9, 165.
- Shi, H., Shi, A., Dong, L., Lu, X., Wang, Y., Zhao, J., Dai, F., & Guo, X. (2016). Chlorogenic acid protects against liver fibrosis *in vivo* and *in vitro* through inhibition of oxidative stress. *Clinical Nutrition*, 35, 1366–1373
- Shi, A., Shi, H., Wang, Y., Liu, X., Cheng, Y., Li, H. Zhao, H., Wang, S., & Dong, L. (2018). Activation of Nrf2 pathway and inhibition of NLRP3 inflammasome activation contribute to the protective effect of chlorogenic acid on acute liver injury. *International Immunopharmacology*, 54, 125–130.
- Song, D., Zhang, S., Chen, A., Songy, Z., & Shi, S. (2024). Comparison of the effects of chlorogenic acid isomers and their compounds on alleviating oxidative stress injury in broilers. *Poultry Science*, 103, 103649. doi: 10.1016/j.psj.2024.103649.
- Surai, P. F., & Fisinin, V. I. (2016). Vitagenes in poultry production: Part 3. Vitagene concept development. *World's Poultry Science Journal*, 72, 751. doi: 10.1017/S0043933916000751.
- Tan, H., Zhen, W., Bai, D., Liu, K., He, X., Ito, K., ... & Ma, Y. (2023). Effects of dietary chlorogenic acid on intestinal barrier function and the inflammatory response in broilers during lipopolysaccharide-induced immune stress. *Poultry Science*, 102(5), 102623.
- Tosovic, J., Markovic, J., Dimitric Markovic, M., Mojovic, M., & Milenkovic, D. (2017). Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. *Food Chemistry*, 237, 390–398.
- Tsiouris, V., Georgopoulou, I., Batzios, C., Pappaioannou, N., Ducatelle, R., & Fortomaris, P. (2018). Heat stress as a predisposing factor for necrotic enteritis in broiler chicks. *Avian Pathology*, 47, 24574. doi: 10.1080/03079457.2018.1524574.
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, 56, 2215–2244
- Ustundag, A. O., & Ozdogan, M. (2015). Usage possibilities of mulberry leaves in poultry nutrition. *Scientific Papers. Journal of Animal Science*, 58, 170-178.
- Weinbrenner, T., Fito, M., Torre, R. D., Saez, G. T., Rijken, P., & Tormos, C. (2004). Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *Journal of Nutrition*, 134, 2314-2321.
- Zeng, J., Zhang, D., Wan, X., Bai, Y., Yuan, C., Wang, T., Yuan, D., C Zhang, C., & Liu, C. (2020). Chlorogenic acid suppresses miR-155 and ameliorates ulcerative colitis through the NF-kB/NLRP3 inflammasome pathway. *Molecular Nutrition & Food Research*, 64: e2000452
- Zha, P., Wei, L., Liu, W., Chen, Y., & Zhou, Y. (2023). Effects of dietary supplementation with chlorogenic acid on growth performance, antioxidant capacity, and hepatic inflammation in broiler chickens subjected to diquat-induced oxidative stress. *Poultry Science*, 102, 102479. doi.org/10.1016/j.psj.2023.102479
- Zhang, Y., Wang, Y., Chen, D., Yu, B., Zheng, P., Mao, X., Luo, Y., Li, Y., & He, J. (2018). Dietary chlorogenic acid supplementation affects gut morphology, antioxidant capacity and intestinal selected bacterial populations in weaned piglets. *Food & Function*, 9, 4968–4978.
- Zhang, X., Zhao, Q., Ci, X., Chen, S., Xie, Z., Li, H., Zhang, H., Chen, F., & Xie, Q. (2020). Evaluation of the efficacy of chlorogenic acid in reducing small intestine injury, oxidative stress, and inflammation in chickens challenged with *Clostridium perfringens* type A. *Poultry Science*, 99, 6606–6618.
- Zhao, S. J., Deng, W., & Liu, H. W. (2019). Effects of chlorogenic acid-enriched extract from *Eucommia ulmoides* leaf on performance, meat quality, oxidative stability, and fatty acid profile of meat in heat-stressed broilers. *Poultry Science*, 98, 3040–3049. doi:10.3382/ps/pez081.