

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 .



Copyright ©2025 Fathi and Mardani. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/), which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

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 مبسوط

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 اسیدفولویکی 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 تأیید 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 در کیلوگرم اسید کلروژنیک)، ۳- گروه CGA-1000 (تغذیه‌شده با جیره پایه + ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک)، و ۴- گروه CGA-1500 (تغذیه‌شده با جیره پایه + ۱۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم 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 سوپراکسیددسموتاز، با استفاده از کیت‌های برند نوند سلامت اندازه‌گیری شدند. برای تعیین میزان غلظت مالون‌دی‌آلدئید سرم، میزان جذب نوری در نمونه‌ها با روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه تعیین گردید. مقادیر هر کدام از سیتوکین‌های (IL-6)، IL-1β، interlukin-6 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 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 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-1β، IL-6 و TNF-α را کاهش داد ($P < 0/05$). کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، تری‌گلیسرید، کلسترول، و LDL 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 افزایش تقاضا برای پروتئین حیوانی، به حداکثر رساندن تولیدات طیور بسیار مهم است. از این رو، جوجه های گوشتی امروزی برای حداکثر رشد و راندمان غذایی انتخاب ژنتیکی شده اند که منجر به مشکلات قابل توجهی در این صنعت شده است و آن ها را در برابر انواع مختلف استرس حساس کرده است (Lee et al., 2019; Fathi et al., 2023 a, b). استرس یک پاسخ بیولوژیکی به محرک های بیرونی یا درونی است که تعادل فیزیولوژیکی طبیعی یک ارگانیسم را مختل می کند (Elitok, 2018). تولید تجاری طیور با طیف وسیعی از استرس ها مواجه است که می تواند بر تولید، عملکرد تولیدمثلی و سلامت کلی پرندگان تأثیر منفی بگذارد. این تنش ها شامل عوامل محیطی، تغذیه ای و فیزیولوژیکی هستند (Surai & Fisinin, 2016). طیور در معرض انواع مختلف عوامل استرس زای محیطی مانند نوسانات دمایی، محدودیت خوراک، تراکم، آلاینده ها و غیره هستند (Tsiouris et al., 2018; Zhang et al., 2018). دستکاری تغذیه ای در طول استرس در کاهش مشکلات ناشی از استرس عوامل استرس زا در جهت حفظ سلامت و عملکرد تولید گله در مزارع مرغ گوشتی مؤثر است. این مکمل ها به دلیل خواص تغذیه ای و دارویی، عوارض جانبی بسیار کم، قابلیت های آنتی اکسیدانی و تقویت کننده سیستم ایمنی، توانایی حفظ تعادل اسید و باز و بهبود عملکرد تولید در جوجه های گوشتی ثابت شده اند (Fathi et al., 2023 a,b).

علاوه بر این تحقیقات زیادی نشان می دهند که مکمل سازی جیره جوجه های گوشتی با ترکیبات حاوی آنتی اکسیدان های طبیعی، از جمله دارچین (Fathi et al., 2018) و یا محرک افزایش توان آنتی اکسیدانی بدن از جمله دستگاه گوارش (Fathi et al., 2019)، می تواند سبب افزایش ایمنی و بهبود عملکرد تولید در این پرندگان شود.

اسید کلروژنیک (CGA¹) که به نام اسید ۵-کافئویل کوئینیک نیز شناخته می شود، یک استر از کافئیک اسید با اسید کوئینیک است که به طور طبیعی در انواع گونه های مختلف گیاهی یافت می شود و دارای عملکردهای بیولوژیکی متعددی مانند آنتی اکسیدان، ضد میکروبی، ضد ویروسی، ضد التهابی، ضد دیابتی و ضد سرطانی است (Tajik et al., 2017; Lu et al., 2020). ساختار فنلی ویژه CGA سبب ایجاد فعالیت مهار رادیکال های آزاد در آن است و می تواند به طور مفیدی رادیکال های آزاد مختلف را از بین ببرد، به طور مؤثر پراکسیداسیون لیپیدی سلولی را مهار کند و به طور مفیدی ثبات غشای سلولی را تنظیم کند (Liang & Kitts, 2015). شواهد تجربی و بالینی اثرات آنتی اکسیدانی CGA را در داخل بدن و در شرایط آزمایشگاهی از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی مستقیم و یا نقش تنظیمی آن بر روی مسیرهای انتقال سیگنال درگیر در دفاع آنتی اکسیدانی سلولی تأیید کرده اند (Shi et al., 2016; Bao et al., 2018). ویژگی آنتی اکسیدانی CGA امکان استفاده از آن را به عنوان یک آنتی اکسیدان امیدوارکننده

و سبز در خوراک دام فراهم می کند. نشان داده شده است که مکمل های غذایی با CGA می توانند عملکرد رشد و ظرفیت آنتی اکسیدانی مخاط روده را در جوجه های گوشتی با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ آنتی اکسیدانی بهبود بخشند (Liu et al., 2022a, b). در جوجه های گوشتی، مکمل های CGA برای افزایش عملکرد رشد، کاهش پاسخ التهابی، جلوگیری از آسیب روده، بهبود عملکرد سد مخاطی روده و بهبود آسیب اکسیداتیو در جوجه های گوشتی که با کوکسیدیای یا کلستری دیوم پرفرنجنس به چالش کشیده شده اند، گزارش شده اند (Zhang et al., 2020; Liu et al., 2022a). با این حال، اطلاعات کمی در مورد استفاده از CGA بر عملکرد و وضعیت ایمنی، التهابی و آنتی اکسیدانی در جوجه های گوشتی در شرایط نرمال پرورشی وجود دارد. بنا بر این، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی مکمل اسید کلروژنیک بر عملکرد رشد، وضعیت آنتی اکسیدانی، ایمنی، التهابی و وضعیت برخی از فراسنجه های بیوشیمیایی جوجه های گوشتی طراحی شد.

مواد و روش ها

تعداد ۳۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه جنس نر (۴۵ ± ۱۲/۲ گرم) از سویه تجاری راس (۳۰۸) در چهار تیمار آزمایشی (پنج تکرار و ۱۵ جوجه در هر واحد آزمایشی) توزیع گردیدند. پرنده ها در پنهایی با ابعاد ۱۱۰ × ۱۵۰ سانتیمتر و ارتفاع ۸۰ سانتی متر تا سن ۴۲ روزگی روی بستر پرورش یافتند. جیره های آزمایشی در هر مرحله (آغازین، ۱۰-۰ روزگی، رشد، ۲۴-۱۱ روزگی و پایانی، ۴۲-۲۵ روزگی) براساس راهنمای پرورش جوجه گوشتی راس ۳۰۸ بر پایه ذرت-سویا و با استفاده از ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی طبق جداول انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۱۹۹۴) توسط نرم افزار جیره نویسی UFFDA تنظیم شدند. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده اند.

تیمارهای آزمایشی شامل: ۱- گروه شاهد (تغذیه شده با جیره پایه)، ۲- گروه CGA-500 (تغذیه شده با جیره پایه + ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک)، ۳- گروه CGA-1000 (تغذیه شده با جیره پایه + ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک)، و ۴- گروه CGA-1500 (تغذیه شده با جیره پایه + ۱۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم اسید کلروژنیک) بودند. اسید کلروژنیک استفاده شده در این تحقیق تولید شرکت شانگ های چین (Shaanxi Lonier Herb Bio-Technology Co., Ltd) با خلوص ۹۸/۱۲ درصد بود که به صورت پودر به خوراک آردی اضافه شد.

برنامه نوری به صورت یک ساعت تاریکی و ۲۳ ساعت روشنایی بود. در طول دوره آزمایش، پرندگان دارای دسترسی آزاد به آب و خوراک (آردی) بودند. برنامه دمایی، تهویه و رطوبت برای تمام تیمارهای آزمایشی یکسان و مطابق پیشنهادات سویه راس ۳۰۸ برای دوره های زمانی مختلف تنظیم گردیدند. برنامه واکسیناسیون بیماری نیوکاسل در

1 Chlorogenic acid (CGA)

مالون‌دی‌آلدئید به‌روش تیوباربیتوریک 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-1β) (Interleukin-1β) و فاکتور نکروز توموری آلفا (TNF-α: tumor necrosis factor-α) به‌وسیله کیت‌های 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 i3 UV-VIS (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 فوتومتریک 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 سانتریفوژ (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 گلوکاتایون پراکسیداز (GSH-Px¹) و سوپراکسیددیسموتاز (SOD²) با استفاده از کیت‌های برند نوند سلامت به‌کمک دستگاه الایزا 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 سانتریفوژ جدا گردیدند. محلول صاف‌شده رویی با اسید تیوباربیتوریک 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 جیره های 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	دی کلسیم 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	دی ال-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%
3218	3082	2990	ترکیب مواد مغذی محاسبه شده Nutrient Composition (calculated)
19.3	21.3	23	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)
0.79	0.87	0.96	پروتئین خام (درصد) Crude protein, %
0.361	0.409	0.456	کلسیم (درصد) Calcium (Ca), %
0.16	0.16	0.16	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus, %
0.58	0.64	0.71	سدیم (درصد) Sodium (Na), %
0.89	0.89	1.07	متیونین (درصد) Methionine, %
1.17	1.30	1.46	متیونین+سیستئین (درصد) Methionine +cysteine, %
1.30	1.45	1.56	لیزین (درصد) Lysine, %
0.78	0.87	0.96	آرژنین (درصد) Arginine, %
0.29	0.32	0.35	ترئونین (درصد) Threonine, %
			تریپتوفان (درصد) Tryptophan, %

غلظت ویتامین در هر کیلوگرم جیره: ریتینول، ۱۳/۵۰ میلی گرم. کوله کلسیفرول، ۴/۱۵ میلی گرم؛ توکوفرول استات، ۳۲/۰۰ میلی گرم؛ ویتامین K3، ۲ میلی گرم؛ تیامین، ۲ میلی گرم؛ ریبوفلاوین، ۶۰۰ میلی گرم؛ بیوتین، ۰/۱ میلی گرم؛ کوپالامین، ۰/۰۱۵ میلی گرم؛ پیراکسیدین، ۳ میلی گرم؛ نیاسین، ۱۱/۰۰ میلی گرم؛ دی پانتوتنیک اسید، ۲۵/۰ منادیون سدیم بی سولفات، ۱/۱۰؛ اسید فولیک، ۱/۰۲؛ کولین کلرید، ۲۵۰ میلی گرم؛ نیکوتین آمید، ۵ میلی گرم.

^a غلظت مواد معدنی در هر کیلوگرم جیره: پانتوتنات کلسیم، ۲۵ میلی گرم. آهن (از سولفات آهن)، ۳۵ میلی گرم؛ مس (از سولفات مس)، ۳۵ میلی گرم؛ منگنز (از سولفات منگنز)، ۶۰ میلی گرم؛ روی (از سولفات روی)، ۳۵ میلی گرم؛ I (از یدات کلسیم)، ۰/۰۶ میلی گرم؛ Se (از سلنیت سدیم)، ۰/۰۳ میلی گرم.

^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

آنتی اکسیدانی سرم و کبد

داده های موجود در جدول ۳ تاثیر سطوح مختلف CGA بر وضعیت آنتی اکسیدانی سرم و کبد را نشان می دهند. مکمل سازی سطوح مختلف CGA به طور معنی داری سبب بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی سرم و کبد شد به طوری که بالاترین سطح سرمی و کبدی آنزیم های GSH-Px و کمترین سطح MDA مربوط به تیمارهای ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم CGA در کیلوگرم خوراک بودند ($P < 0.05$). اختلاف معنی داری بین اثرات سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم بر وضعیت آنتی اکسیدانی 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 فراسنجه های عملکردی و تلفات (جدول ۲) نشان دادند که تجویز مکمل CGA در هر سه سطح به طور معنی داری سبب افزایش غیرخطی خوراک مصرفی و افزایش وزن حاصله و همزمان سبب کاهش غیرخطی ضریب تبدیل خوراک شد به طوری که بهترین تاثیر مثبت بر عملکرد مربوط به سطح ۱۰۰۰ میلی گرم در کیلوگرم CGA بود ($P < 0.05$). علاوه بر این، مکمل سازی CGA در سطوح مختلف سبب کاهش خطی تلفات شد به طوری که کمترین تلفات در طول دوره آزمایش مربوط به سطوح ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم 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	خطای احتمالی خطی Linear
0.321	0.011	0.011	0.021	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	سرم Serum
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	خطای احتمالی خطی Linear	
0.091	0.190	0.200	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)	تیمارها Treatments	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	خطای احتمالی خطی Linear	
0.013	0.191	0.300	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 بود. CGA

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 آنتی اکسیدانی، 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 میلی گرم 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

تیمارها Treatments	اینتروکین-1β (نانوگرم/میلی گرم پروتئین) IL-1β (ng/mg protein)	اینتروکین-6 (نانوگرم/میلی گرم پروتئین) IL-6 (ng/mg protein)	فاکتور نکروز توموری آلفا (نانوگرم/میلی گرم پروتئین) TNF-α (ng/mg protein)
Control	19.56 ^a	291.23 ^a	31.69 ^a
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 Linear	0.001	0.001	0.010
خطای احتمال P Value	0.280	0.190	0.090
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 ($P < 0.05$). 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

تیمارها Treatments	آلانین ترانس آمیناز (واحد/لیتر) ALT (U/L)	آسپارات ترانس آمیناز (واحد/لیتر) AST (U/L)	ایمونوگلوبولین G (واحد/میلی لیتر) Ig G (U/mL)	ایمونوگلوبولین G (واحد/میلی لیتر) 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 Linear	0.010	0.010	0.001	0.001
خطای احتمال P Value	0.390	0.410	0.002	0.001
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 ($P < 0.05$).
 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

تیمارها Treatments	کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر) Cholesterol (mg/dl)	تری گلیسرید (میلی گرم/دسی لیتر) TG (mg/dl)	لیپوپروتئین با دانسیته پایین (میلی گرم/دسی لیتر) LDL (mg/dl)	لیپوپروتئین با دانسیته بالا (میلی گرم/دسی لیتر) 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 Linear	0.001	0.010	0.001	0.021
خطای احتمال P Value	0.410	0.461	0.390	0.190
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 ($P < 0.05$).
 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.

تأثیر 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 تأثیر 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 کاهشی 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 پراکسیداسیون 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 دگزامتازون را بهبود بخشید (Liu et al., 2022a, b). همچنین، تأثیر مثبت مکمل‌سازی جیره غذایی خوک‌های تازه از شیر گرفته‌شده با CGA گزارش شده است (Chen et al., 2018b; Zhang et al., 2018, 2020). 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 قرل‌آلای 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 به‌دلیل 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 آلایسیک، 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 به‌دلیل ساختار فنلی آن توضیح داد (Shin et al., 2017). علاوه بر این، نشان داده شده است که CGA و ایزومرهای آن به‌دلیل 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) می‌تواند سبب القاء پاسخ‌های التهابی شوند. علاوه بر این، پیشنهاد شده است که بیان mRNA برای سیتوکین‌های پیش‌التهابی در طول استرس اکسیداتیو ناشی از گرما افزایش

می‌یابد و منجر به پاسخ التهابی می‌شود که ممکن است منجر به ایجاد پاسخ‌های التهابی شود (Ohtsu *et al.*, 2015). در مطالعه حاضر، CGA نقش مثبتی در کاهش پاسخ التهابی جوجه‌های گوشتی داشت، به‌طوری‌که سبب کاهش سیتوکین‌های پیش‌التهابی IL-6، TNF- α و IL-1 β 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 β 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).

موفق با تحقیق حاضر، تجویز CGA در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان به‌طور 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 متیل‌گلوتاتینون 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. به‌طور 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., & Saeedyan, 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., Saeedyan, 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., Saeedyan, 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.