

The effect of cinnamon nanoparticles produced with ultrasonic waves on growth performance, digestive enzyme activity, thyroid hormone levels, and ileal bacterial population in broiler chickens

Ali Hashem Mohammad ¹, Kianoosh Zarrinkavyani ^{*2}, Mokhtar Fathi^{*} ³, and

Zahra Biranvand ⁴

1-PhD students, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, University of Ilam, Ilam, Iran.

3-Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

4- Researcher, Department of Animal Science, Ilam Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ilam, Iran..

*Correspondence to: Mokhtar fathi: Mokhtarfathu@pnu.ac.ir

Introduction:

Today, the tendency to find healthy and safe additives in livestock and poultry has increased. Plants and their products include plant extracts, essential oils or their ingredients, including alternative growth stimuli, which are due to their antimicrobial properties in the animal feed industry and in the field of testing. Cinnamon is a plant from the Lauraceae family and has different species, the most famous of which are two species: species, *Cinnamomum*, known as the Cinnamon Cinnamon Market, is one of the most desirable types of cinnamon, and the species, *Cinnamomum Cassia*, which is mainly in China, Vietnam and Indonesia, is called Cinnamon China and Saigon. These two types of cinnamon are not the same in quality, but due to their many similarities in terms of properties and perfumes, in most parts of the world they do not differentiate for these two types of cinnamon. Cinnamon is commonly used in the animal feed and poultry because of its specific fragrance cinnamon essential oil is the only important part of cinnamon that contains 1 % in the plant. The main ingredients of cinnamon cinnamaloids, hydroxy cinnamaldehy, eugenol, safrol, cinnamil acetate, cinnamyl alcohol, carvacrol, cumarin, terminoids, phenylprophanoids, and karyophylline can be used to treat insulin-like activity. Cinnamon essential oils are responsible for the taste, the expansion of anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant activity. The researchers consider the antioxidant effect of cinnamon to be more related to the two compounds of eugenol and methyl hydroxy chalkon. Eughansol improves the activity of glutathione peroxidase and enhances resuscitated glutathione. It has shown that cinnamon extract prevents the growth of some bacteria, such as *Helicobacter Pillari*, *E. Coli*, *Entreococcus*, *Sinodomonas*, *Staphylococcus* and *Salmonella*, thereby increasing the relative population of the lactobacillus. It is guessing that terminoids and phenyropopanoids in cinnamon oil are penetrated into the membrane membrane of the bacteria and thus destroy them. In another study, cinnamon antimicrobial properties attributed to the contents of cinnamady, eugenol and carvacrol. In spite of the enormous impact of cinnamon compounds, limited absorption, rapid metabolism, high solubility and the rapid elimination of the biological systemic system is extremely limited and thus strictly limited its medicinal role. One of the suggested ways is to use cinnamon in the form of nanoparticles that can enhance the absorption, solubility and protection of its compounds against hydrolysis. Therefore, the main purpose of this study was to evaluate nanocinomon (nanoparticles of dry cinnamon extract) on the function of the meat chickens.

Materials and Methods:

A study was conducted to investigate the effects of cinnamon nanoparticles on growth performance, digestive enzyme activity, thyroid hormone levels, and ileum bacterial population in broiler chickens. A total 500 of broiler chickens ROSS 308 in a completely random design to five treatments, each treatment was assigned in five repetitions with 20 one-day-old chickens. Five experimental treatments included: 1- control (fed with basal diet) and 2, 3, 4 and 5 treatments were the basal diet plus 150, 300, 450 and 600 mg of cinnamon nanoparticles per kg of feed, respectively. Ultrasonic method was used to synthesize synthesis.

Results and Discussion:

The results showed that the supplementation of cinnamon nanoparticles significantly increased feed consumption, increased weight gain, and reduced feed conversion ratio and mortality ($P < 0.05$). The best growth performance was found in 450 mg of cinnamon nanoparticles group. The results of the effect of cinnamon nanoparticles of the digestive enzymes also showed that cinnamon nanoparticles had a significant effect on increased secretion of gastrointestinal enzymes, and the highest levels of digestive enzymes in the serum was found in 450 mg nanoparticles cinnamon group ($P < 0.05$). The results of thyroid hormones showed that cinnamon nanoparticles without significant effect on the serum level of TSH hormone, so significant reduced serum levels of T3 and increased T4 level ($P < 0.05$). In addition to the results of the intestinal bacteria of the broiler chickens showed that supplementation of the cinnamon reduced the population of E.coli and a significant increase in the population of lactobacillus bacteria ($P < 0.05$).

Conclusions: Generally, the results of this study showed that the use of cinnamon nanoparticles at 450 mg can improve performance by increasing feed consumption, increased digestive enzyme secretion and improved the intestinal microbial population and improved performance.

Keywords: Bacterial population, Cinnamon nanoparticles, Chickens, Digestive enzymes, Growth, Thyroid hormones.

بررسی تاثیر نانوذرات سینامون تولیدی با امواج فراصوت بر عملکرد رشد، آنزیم‌های

گوارشی، سطح هورمون‌های تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلئوم در جوجه‌های

گوشتی

علی هاشم محمد^۱، کیانوش زرین کاویانی^۲، مختار فتحی^{۳*} و زهرا بیرانوند^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۸

۱- دانش آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

۲- استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

۴- پژوهشگر بخش علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان ایلام، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ایلام، ایران.

*نویسنده مسئول: Mokhtarfathi@pnu.ac.ir

چکیده

مطالعه‌ای برای بررسی اثرات نانوذرات سینامون تولید به روش امواج فراصوت بر عملکرد رشد، فعالیت آنزیم‌های ترشحاتی، سطح سرمی هورمون‌های تیروئیدی و جمعیت باکتریایی ایلئوم در جوجه‌های گوشتی انجام شد. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی سویه رأس ۳۰۸ در یک طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار، هر تیمار در پنج تکرار دارای ۲۰ جوجه یکروزه اختصاص داده شد. پنج تیمار آزمایشی شامل: ۱- تیمار شاهد (تغذیه شده با جیره پایه) و تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب دریافت کننده جیره پایه به علاوه سطوح ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بودند. برای سنتز نانوذرات سینامون از روش امواج فراصوت (اولتراسونیک) استفاده شد. نتایج نشان داد مکمل سازی نانوذرات سینامون، به طور معنی داری باعث افزایش خوراک مصرفی،

افزایش وزن حاصله و کاهش ضریب تبدیل خوراک و تلفات شد ($P < 0.05$)، بهترین عملکرد رشد مربوط به گروه ۴۵۰ میلی گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بود. نتایج حاصل از تاثیر نانوذرات سینامون بر سطح آنزیم‌های گوارشی نیز نشان داد نانوذرات سینامون تاثیر معنی‌داری بر افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز داشته و بالاترین سطح آنزیم‌های گوارشی در سرم مربوط به گروه ۴۵۰ میلی گرم نانوذرات سینامون بود ($P < 0.05$). نتایج مربوط به هورمون‌های تیروئیدی نشان داد نانوذرات سینامون بدون تاثیر معنی‌دار بر سطح سرمی هورمون TSH، به طوری معنی‌داری سبب کاهش سطح سرمی T3 و افزایش سطح T4 شد ($P < 0.05$). علاوه بر این نتایج شمارش باکتریهای روده جوجه‌های گوشتی نشان داد مکمل‌سازی سینامون سبب کاهش جمعیت باکتری‌های ای‌کولای و افزایش معنی‌داری جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس روده جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$). به طور کلی، نتایج این تحقیق نشان داد استفاده از نانوذرات سینامون تولیدی با استفاده از امواج فراصوت در سطح ۴۵۰ میلی گرم می‌تواند از طریق افزایش خوراک مصرفی، افزایش ترشح آنزیم‌های گوارشی و بهبود جمعیت میکروبی روده، سبب بهبود عملکرد جوجه‌های گوشتی شود.

کلمات کلیدی: آنزیم‌های گوارشی، نانوذرات سینامون، جمعیت باکتریایی روده، عملکرد، جوجه‌های گوشتی، هورمون‌های تیروئیدی.

مقدمه

امروزه به طور گسترده تمایل زیادی برای یافتن افزودنی‌های سالم و بی‌خطر در پرورش دام و طیور افزایش یافته است. گیاهان و فرآورده‌های آنها شامل عصاره‌های گیاهی، اسانس‌ها و یا مواد تشکیل‌دهنده آنها از جمله محرک‌های رشد جایگزین هستند که به علت خصوصیات ضد میکروبی که دارند در صنعت خوراک دام و طیور مورد آزمایش قرار گرفته‌اند (Behrooz Lak et al., 2014).

دارچین گیاهی است از خانواده Lauraceae و گونه‌های مختلفی دارد که معروفترین آنها دو گونه‌اند: گونه *Cinnamomum Verum* که در بازار تجارت به نام دارچین سیلان معروف است و از مرغوب‌ترین انواع دارچین است و گونه *Cinnamomum Cassia* که رویشگاه آن عمدتاً در چین، ویتنام و اندونزی است و در بازار به نام دارچین چین و سایگون نامیده می‌شود. این دو نوع دارچین از نظر کیفیت یکسان نیستند ولی به علت شباهتهای زیادی که از نظر خواص و عطر با هم دارند در اغلب مناطق دنیا برای این دو گونه دارچین تفاوتی قائل نیستند (Fathi et al., 2017). دارچین بواسطه رایحه خاصی که دارد معمولاً در صنعت خوراک دام و طیور مورد استفاده قرار گرفته است.

اسانس دارچین تنها قسمت مهم دارچین است که به مقدار یک درصد در پوست گیاه مذکور وجود دارد. ترکیبات اصلی اسانس دارچین سینامالدئید، هیدروکسی سینامالدئید، اوژنول، سافرول، سینامیل استات، سینامیل الکل، کارواکرول، کومارین، ترپنوئیدها، فنیل پروپانوئیدها و کاربوفیلین هستند که فعالیتی شبیه به انسولین دارند و می‌توانند در درمان دیابت مفید باشند. علاوه بر این، عصاره سینامون می‌تواند با تعدیل بیان ژن مربوط به تولید هورمون T3، تولید این هورمون را کاهش دهد و از این طریق سبب بهبود عملکرد قلب و شاخص‌های سلامتی در موش‌ها شد (Gaique et al., 2016).

روغنهای اسانسی دارچین مسئول طعم، گسترش فعالیت ضد التهابی، ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی هستند. قسمت اعظم اسانس را سینامالدئید (۶۵-۷۵ درصد) تشکیل می‌دهد با ترکیب مولکولی $C_9H_{13}O$ به صورت مایعی روغنی مایل به زرد است و بوی قوی دارچین دارد. محققان اثر آنتی‌اکسیدانی دارچین را بیشتر مربوط به دو ترکیب اوژنول و متیل هیدروکسی چالکون می‌دانند. مصرف اوژنول باعث بهبود فعالیت گلوکوتانیون پراکسیداز و افزایش گلوکوتانیون احیاء شده در سلول می‌شود (Sang-Oh et al., 2013). علاوه بر این، دارچین از نظر درمانی دارای اثرات پایین آورنده قند خون، اثرات ضد انقباضی و آنتی‌اکسیدان است (Fathi et al., Ciftci et al., 2010).

گزارش کرده‌اند عصاره دارچین، از رشد برخی از گونه‌های باکتری مانند هلیکوباکتر پیلوری، ای‌کولای، انتروکوکوس، سودوموناس، استافیلوکوکوس و سالمونلا جلوگیری به عمل می‌آورد و به این ترتیب سبب افزایش نسبی جمعیت لاکتوباسیلوس‌ها می‌شود. حدس بر این است که ترپنوئیدها و فنیل پروپانوئیدهای موجود در روغن دارچین، به درون غشای باکتریها نفوذ پیدا کرده و از این طریق موجب انهدام آنها می‌گردند (AL- (Kassie, 2009; Anguo *et al.*, 2008). در تحقیقی دیگر ویژگی ضد میکروبی دارچین به محتوی سینامالدهید، اوژنول و کارواکرول نسبت دادند (Tabak *et al.*, 1999).

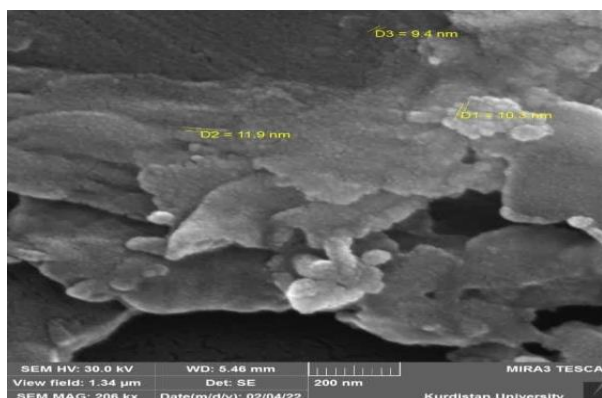
علی‌الرغم اثر بخشی بسیار ترکیبات دارچین، جذب محدود، متابولیسم سریع، حلالیت آبی بسیار کم و حذف سریع سیستمیک زیست‌فراهمی و در نتیجه نقش دارویی آن را به شدت محدود می‌کند. از جمله راههای پیشنهادی، استفاده از دارچین در فرم نانوذرات است که می‌توانند سبب افزایش جذب، حلالیت و محافظت ترکیبات آن در برابر هیدرولیز گردد (Zhu *et al.*, 2024). بنابراین هدف اصلی از اجرای این تحقیق ارزیابی نانوسینامون تولید به کمک روش فراصوت (نانو ذرات عصاره خشک دارچین) بر عملکرد جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه نر یک روزه گوشتی سویه رأس ۳۰۸ با میانگین وزنی ± 2 گرم در قالب طرح کاملاً تصادفی به پنج تیمار آزمایشی، پنج تکرار و ۲۰ قطعه جوجه در هر تکرار (واحد آزمایشی) اختصاص داده شد. تیمارهای آزمایشی شامل: (۱) تیمار شاهد (بدون هر افزودنی)، تیمارهای ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب جیره پایه به علاوه سطوح ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم نانوذرات سینامون در کیلوگرم خوراک بودند. جوجه‌های گوشتی در هر واحد آزمایشی روی بستری از پو شال در قفس زمینی به طول ۲/۲، عرض ۱ و ارتفاع ۱ متر به مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند. در سه روز ابتدایی پرورش، از آبخوری کله قندی و بعد از آن تا پایان دوره از آبخوری نیپل استفاده شد. برای هر قفس به طور جداگانه یک مخزن آب در بسته ۱۰ لیتری مدرج تعبیه شد. جیره پایه بر اساس جیره‌های آزمایشی در هر مرحله (آغازین، ۱۰-۰ روزگی، رشد، ۲۴-۱۱ روزگی و پایانی، ۲۵-۴۲ روزگی) براساس راهنمای پرورش جوجه گوشتی رأس ۳۰۸ بر پایه ذرت-سویا و با استفاده از ترکیب شیمیایی اقلام خوراکی طبق جداول انجمن تحقیقات ملی آمریکا (۱۹۹۴) توسط نرم‌افزار جیره‌نویسی UFFDA تنظیم شدند. مواد خوراکی تشکیل‌دهنده و ترکیبات شیمیایی جیره‌های آزمایشی در جدول ۱ آورده شده است. برنامه دمایی، تهویه و رطوبت برای تمام تیمارهای آزمایشی یکسان و مطابق پیشنهادات سویه رأس ۳۰۸ برای دوره‌های زمانی مختلف تنظیم گردید. برنامه واکسیناسیون بیماری نیوکاسل در روزهای ۷، ۱۷ و ۲۸ روزگی و واکسیناسیون بیماری گامبورو در ۱۴ روزگی در آب آشامیدنی انجام شد.

سنتز نانوذرات سینامون

برای سنتز نانوذرات سینامون از روش امواج فراصوت (اولتراسونیک) استفاده شد. این روش بر اساس استفاده از انرژی امواج مافوق صوت است. روش اولتراسونیک بر اساس پدیده‌ای به نام حباب‌زایی (Cavitation) است که شامل ایجاد یکسری حباب در اثر اعمال سونیک در محلول است. فرآیندی که در اثر اعمال امواج مافوق صوت در محلول اتفاق می‌افتد شامل تشکیل، رشد و انفجار حباب‌ها در محلول است. با این منظور نسبت‌های مختلفی از عصاره خشک سینامون در اتانول و در دمای‌های ۲۵ و ۵۰ سانتی‌گراد درون دستگاه اولتراسونیک (مدل BANDELIN SONOPLUS، شرکت فراز طب تجهیز، ایران، شکل ۱) تحت توان ۳۰۰ وات به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند.



شکل ۱: دستگاه اولتراسونیک

شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی ذره سینامون در بزرگنمایی‌های متفاوت

بهترین عملکرد و بیشترین پخش شدن در حل کردن ۵ گرم پودر سینامون در ۴۰۰ سی سی اتانول و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مشاهده شد. در بقیه موارد پودر سینامون حالت کلوخه و چسبناک پیدا کرد. در نهایت نیز برای تایید سنتز نانوذره مورد نظر، از روش میکروسکوپ الکترونی نگاره (SEM) استفاده شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی، شکل کروی نانوذره و سایز زیر ۵۰ نانومتر را نشان دادند (شکل ۲). نتایج شمارش ذرات نانو نسبت به کل ذرات موجود در محلول نشان داد درصد رات نانو به کل ذرات ۶۸ درصد بود. عصاره خشک دارچین (سینامون) با نام تجاری استفاده شده در این تحقیق محصول شرکت آدونیس گل دارو بود که به شکل کیسه یک کیلوگرمی پودر قهوه‌ای تاریک با خلوص ۹۵ درصد و حاوی ۱۰/۳۱ درصد ماده مؤثره سینامالدئید بسته‌بندی شده بود. اتانول استفاده شده نیز از شرکت پارس مدیکو با خلوص ۹۹ درصد تهیه گردید.

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 گردید. تلفات نیز به محض مشاهده ثبت شد. در روز ۴۲ دوره‌ی پرورش از هر قفس دو جوجه به طور تصادفی انتخاب و بعد از ۳ ساعت گرسنگی، خون‌گیری از سیاهرگ بال انجام گردید. نمونه‌های خونی به لوله‌های آزمایش فاقد ماده ضد انعقادی وارد گردید و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید و بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه) سرم جدا و بلافاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا موقع اندازه‌گیری آزمایشات نگهداری گردید. جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون‌های تیروئیدی TSH، T3 و T4 از کیت‌های الیزا محصول شرکت پیش‌تاز طب و طبق دستورالعمل پیشنهادی و به کمک دستگاه الیزا ریدر (USA 303 fax stat) استفاده گردید. جهت تعیین صفات فراسنجه‌های فعالیت آمیلاز و لیپاز سرم توسط کیت‌های اختصاصی شرکت پارس‌آزمون و شرکت زیست شیمی با استفاده از روش اسپکتروفتومتری طبق دستورالعمل شرکت سازنده و در آزمایشگاه رادمهر شهر گرگان انجام شد.

برای شمارش لاکتوباسیلها و ای‌کولای در روز ۴۲ دوره پرورشی، از هر تکرار یک جوجه انتخاب شد (از هر تیمار پنج پرنده) و به روش جابجایی گردن کشته شدند. کالبدگشایی و نمونه‌گیری از محتویات قسمت ایلئوم روده در شرایط کاملاً استریل و در مجاورت شعله انجام شد و سپس نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید. برای جداسازی و شمارش لاکتوباسیلها و ای‌کولای از رقیق کردن متوالی نمونه‌ها و به نسبت (۱ به ۱۰) در محلول استریل سرم فیزیولوژی استفاده شد.

جدول ۱- ترکیب جیره‌های غذایی پایه آزمایشی

Table 1. The ingredients and composition of the basal diet

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 (%)
62.67	58.96	55.88	ذرت (۸ درصد پروتئین خام) Corn (8% CP)
29.73	34.06	37.16	کنجاله سویا (۴۴ درصد پروتئین) Soybean meal (44%CP)
3.75	2.95	2.22	روغن سویا Soybean oil
1.06	1.07	1.31	کربنات کلسیم Calcium carbonate
1.49	1.55	1.79	دی کلسیم فسفات Di-calcium phosphate
0.25	0.25	0.25	مکمل ویتامینه Vitamin premix ^a
0.25	0.25	0.25	مکمل معدنی Mineral premix ^b
0.43	0.50	0.50	کلراید سدیم NaCl
0.24	0.27	0.35	دی ال-متیونین (۹۹ درصد) DL-methionine (99%)
0.13	0.14	0.29	ال-لیزین هیدروکلراید (۷۸ درصد) L-lysine HCL (78%)
			ترکیب مواد مغذی محاسبه شده Nutrient composition (calculated)
3100	3000	2900	انرژی قابل متابولیسم (کیلوکالری بر کیلوگرم) Metabolizable energy (kcal/kg)
18.41	20.00	21.10	پروتئین خام (درصد) Crude protein, %
0.82	0.86	1.00	کلسیم (درصد) Calcium (Ca), (%)
0.19	0.21	0.21	سدیم (Na), (%)
0.41	0.43	0.48	فسفر قابل دسترس (درصد) Available phosphorus, (%)
0.52	0.57	0.68	متیونین (درصد) Methionine, %
0.83	0.90	1.02	متیونین+سیستین (درصد) Methionine+cysteine, %
1.05	1.18	1.37	لیزین (درصد) Lysine, %

^۱ هر کیلوگرم مکمل ویتامینی حاوی: ویتامین A: ۳۶۰۰۰۰۰ IU، ویتامین D₃: ۸۰۰۰۰۰ IU، ویتامین E: ۷/۲ گرم، ویتامین K₃: ۰/۸ گرم، ویتامین B₁: ۱/۷ گرم، ویتامین B₂:

۲/۶۵ گرم، ویتامین B₃: ۱۱/۸۸ گرم، ویتامین B₆: ۱/۸۸ گرم، ویتامین B₉: ۰/۴ گرم، ویتامین B₁₂: شش میلی‌گرم.

^۲ هر کیلوگرم مکمل مواد معدنی حاوی: ۱۰۰ گرم کولین کلراید، ۳۹/۶۸ گرم منگنز (اکسید)، ۳۴/۸۸ گرم روی، ۲۰ گرم آهن، ۴ گرم مس، ۰/۳۹۶ گرم ید، ۰/۰۸ سلنیوم.

^۱ Every kilogram vitamin supplement containing: vitamin A: 3600000 IU, vitamin D₃: IU800000, vitamin E: 7.2 g, vitamin K₃: 0.8g, vitamin B₁: 1.7 g, vitamin B₂: 2.65 g, vitamin B₃: 11.88 g, vitamin B₆: 1.88 mg, vitamin B₉: 0.4g, Vitamin B₁₂: 6 mg,

^۲ Every kilogram mineral supplement containing: chloride chlorine: 100 g, manganese (oxide): 39.68 g, Zn: 34.88 g, Fe: 20 g, Cu: 4g, iodine: 0.396 mg and Se: 0.08 g.

برای شمارش لاکتوباسیلوسها از آگار MRS و برای ای کولای از آگار مک کانی استفاده شد. محیط کشت آگار مخصوص لاکتوباسیلوس در انکوباتور بی هوازی دارای دی اکسید کربن و محیط کشت آگار مخصوص ای کولای در انکوباتور هوازی قرار گرفت. دمای انکوباتور برای تمام محیط کشت ها ۳۷ درجه سانتیگراد و مدت زمان انکوباسیون برای تمام آگارها ۴۸ ساعت بود. پس از محاسبه تعداد کلنی در هر پلیت عدد حاصل در عکس رقت ضرب شد و نتیجه به صورت واحدهای تشکیل کلنی (CFU) در هر گرم بیان شد (Asadi Siah Choghaei et al., 2022; Corduk et al., 2008).

داده های حاصل با استفاده از رویه GLM نرم افزار آماری SAS 9.2 (SAS Institute, 2012) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون دانکن در سطح معنی داری پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر عملکرد رشد و تلفات

تاثیر تیمارهای آزمایشی مختلف بر عملکرد رشد و تلفات جوجه های گوشتی در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان داد که مکمل سازی ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوسینامون در کیلوگرم خوراک در مقایسه با سایر تیمارها، سبب افزایش معنی دار خوراک مصرفی در جوجه های گوشتی در کل دوره آزمایشی شد ($P < 0.05$). بیشترین خوراک مصرفی مربوط به تیمار ۶۰۰ میلی گرم نانوسینامون در کیلوگرم خوراک بود. علاوه بر این، در مقایسه با تیمار شاهد، مکمل سازی نانوذرات سینامون در سه سطح ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوسینامون سبب افزایش معنی داری وزن حاصله در ۴۲ روزگی شد.

بیشترین وزن زنده و بهترین ضریب تبدیل خوراک مربوط به تیمارهای ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$). بهترین عملکرد تولید مربوط به تیمار ۴۵۰ میلی گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$). تجویز نانوسینامون در ۱۵۰ میلی گرم و بیشتر، به طور معنی داری سبب کاهش تلفات در دوره ۴۲-۱ روزگی آزمایش شد. علاوه بر این کمترین تلفات مربوط به تیمارهای ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی گرم نانوسینامون بود ($P < 0.05$). افزایش مصرف خوراک و افزایش وزن پرندگان ناشی از نانوذرات سینامون ممکن است به دلیل خاصیت تحریک کنندگی اشتها و کمک به عمل هضم و جذب ناشی از سینامالدهید موجود در دارچین باشد. علاوه بر این بهبود عملکرد هضم و جذب می تواند به واسطه ترکیبات فعال موجود در دارچین از قبیل تیمول و کارواکرول، سینامالدهید و اوژنول باشد (Fathi et al., 2017; AL-Kassie et al., 2009).

اسانس های گیاهی سبب بهبود عملکرد طیور می شوند زیرا این مواد، ترشح آنزیمهای هضمی را تحریک می کنند و از این مسیر بر میزان جذب مواد مغذی، میزان مصرف خوراک و سرعت عبور مواد از دستگاه گوارش اثر می گذارند. ترکیبات فنولی موجود در اسانس ها دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بوده و از راه کاهش باکتریهای مضر در دستگاه گوارش و تحریک ترشح آنزیم های گوارشی، آثار مثبت و موثری بر افزایش عملکرد دارند (Cross et al., 2007). استفاده از سطوح بالا (۶۰۰ میلی گرم نانوذرات دارچین) در این تحقیق سبب کاهش مصرف خوراک شد. اسانسهای گیاهی محافظت نشده حاوی غلظت بالایی از مواد زیست فعال گیاهان دارویی هستند که ممکن است بو یا طعم تند و زندهای داشته باشند و مصرف مقادیر زیاد آنها شاید سبب امتناع پرند از خوردن و کاهش مصرف خوراک می شود (Hernandez et al., 2004).

علاوه بر این گزارش کرده اند ترکیبات آنتول، کارون، کارواکرول، تیموکینون و ۴-تریپنول دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی بالایی بوده و با حفاظت از پرزهای روده، باعث بهبود عملکرد هضم و جذب و کاهش تلفات در جوجه های گوشتی می شود (Miraghaee et al., 2011; Ghasemi et al., 2014). برخی دیگر از محققین افزایش ارتفاع پرزها و عمق کریپت های روده جوجه های گوشتی را با مکمل سازی اسانس گیاهان دارویی در جوجه های گوشتی گزارش کردند (Hossain et al., 2014; Ali et al., 2014).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر آنزیم‌های گوارشی

نتایج مندرج در جدول ۳ نشان می‌دهد که مکمل‌سازی نانوذرات سینامون در سطوح ۳۰۰ میلی‌گرم و بیشتر

جدول ۳- آنزیم‌های گوارشی جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر جیره ای نانوذرات سینامون در سن ۶ هفتگی

Table 3. Digestive enzymes of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

فراسنجه Items	CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-Value
	0	150	300	450	600		
آمیلاز (واحد/لیتر) Amylase (U/L)	809.19 ^c	811.84 ^c	868.30 ^b	1041.84 ^a	843.61 ^b	8.02	0.01
لیپاز (واحد/لیتر) Lipase (U/L)	472.26 ^c	502.28 ^c	716.26 ^a	738.28 ^a	624.10 ^b	10.25	0.02

^{a, b, c} Mean values in the same row with different superscript letters were significant. (n = 10).

جدول ۲- عملکرد رشد جوجه‌های گوشتی تحت تاثیر جیره ای نانوذرات سینامون در سن ۶ هفتگی

Table 2. Growth performance of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

فراسنجه Items	CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-Value
	0	150	300	450	600		
خوراک مصرفی (گرم) Feed Intake [g]	3937.0 ^b	3859.5 ^b	3867.6 ^b	3742.2 ^c	4352.4 ^a	31.66	0.016
اضافه وزن حاصله (گرم) Body weight gain [g]	2540.0 ^c	2490.0 ^c	2930.0 ^a	2970 ^a	2790 ^b	75.43	0.006
اضافه وزن روزانه (گرم/روز) Body weight gain daily [g/d]	60.47 ^c	59.28 ^c	69.76 ^a	70.71 ^a	66.42 ^b	1.03	0.001
ضریب تبدیل خوراک (گرم خوراک/گرم وزن) Feed conversion ratio [g feed/g gain]	1.55 ^a	1.55 ^a	1.32 ^b	1.26 ^c	1.56 ^a	0.027	0.033
نرخ تلفات (درصد) Mortality rate (%)	4.00 ^a	0.02 ^b	0.02 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c	0.03	0.010

^{a, b, c} Mean values in the same row with different superscript letters were significant. (n = 10).

به طور معنی‌داری سبب افزایش سطح آنزیم‌های گوارشی در جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$). بیشترین سطح

آنزیم‌های گوارشی مربوط به تیمار ۴۵۰ میلی‌گرم نانوذرات سینامون بود ($P < 0.05$).

اگر چه نتایج بسیار متغیری از تاثیر مکمل‌سازی اسانس گیاهان دارویی بر آنزیم‌های گوارشی گزارش شده است اما بیشتر این تحقیقات گزارش کرده‌اند اسانس‌های بسیاری از گیاهان دارویی سبب افزایش ترشح آنزیم‌های گوارش شده و متعاقب سبب بهبود فرآیند هضم و جذب در دستگاه گوارش می‌شوند و ثبات فلور میکروبی روده می‌شوند (Cross et al., 2007; Brenes and Roura, 2010). اعتقاد بر این است که ترکیبات فیتوژنیک با تحریک ترشح آنزیم‌های گوارشی لیپاز و آمیلاز در روده باریک و لوزالمعده منجر به بهبود گوارش‌پذیری مواد مغذی و نهایت بهبود راندمان غذایی می‌شوند (Talha et al., 2010; Talebi et al., 2021). همچنین گزارش شده است که ماده Carroseral موجود در دارچین می‌تواند سبب القاء ترشح آنزیم‌های گوارشی در دستگاه گوارش شود (AL-Kassie et al., 2009). گوارشی هم وجود دارد که نشان می‌دهد دارچین به واسطه مواد فعال Ugeno و Cinnamaldehyde سبب تحریک آنزیم‌های گوارشی شده و هضم و جذب و کارایی استفاده از مواد خوراکی را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهند (Lee et al., 2004).

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر جمعیت باکتریایی ایلئوم
 نتایج تاثیر مکمل سازی نانوذرات سینامون بر جمعیت باکتری های ای کولای و لاکتوباسیلوس ایلئوم جوجه های
 گوشتی در سن ۶ هفتگی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد سطوح مختلف نانوذرات سینامون ۳۰۰
 میلی گرم و بیشتر به طور معنی داری سبب کاهش جمعیت ای کولای و افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس در ایلئوم
 جوجه های گوشتی شد ($P < 0.05$).

افزایش جمعیت لاکتوباسیلوس ها و کاهش جمعیت ای کولای در جوجه های گوشتی هنگام مصرف عصاره گیاهان
 دارویی مختلف گزارش شده است (Markovic et al., 2009; Shams Shargh et al., 2005; Jamroz et al., 2012).
 ترکیبات فنولی موجود در اسانس ها دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بوده و از راه کاهش
 باکتری های مضر در دستگاه گوارش آثار مثبت و موثری بر بهبود عملکرد و درصد ماندگاری جوجه های گوشتی
 دارند (Lee et al., 2004; Cross et al., 2007; Brenes and Roura, 2010). نشان داده اند که دارچین حاوی
 ماده ای به نام Carroseral که دارای خاصیت ضد باکتریایی در دستگاه گوارش می باشد (AL-Kassie et al.,
 2009; Sang-Oh et al., 2013). در تحقیقی، گزارش کرد که ترکیبات موثره و فعال موجود
 در دارچین (تیمول، کارواکرول، سینامالدهید و اوژنول) در برابر باکتری های روده فعالیت ضد میکروبی نشان می-
 دهند. نتایج تحقیقی نشان داد که فعالیت اوره آز در مواد دفعی پرندگان تغذیه شده با جیره حاوی دارچین کاهش
 یافت و عمده تاً نیتروژن را از طریق دفع آمونیومی کاهش می دهد (Anguo et al., 2008).
 قبلاً هم گزارش شده است که احتمالاً تیمول و کارواکرول سبب متلاشی شدن غشای بیرونی باکتری و آزاد سازی

جدول ۴- جمعیت باکتریایی ایلئوم جوجه های گوشتی تحت تاثیر جیره ای نانوذرات سینامون در سن ۶ هفتگی

Table 4. Ileal bacterial population of broiler chicks as affected by dietary cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

Microbiological Count (Log 10 CFU/g fresh digesta)	CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P- Value
	0	150	300	450	600		
<i>E. coli</i>	4.89	4.80	4.32	4.50	4.41	0.68	0.42
<i>Lactic acid bacteria</i>	2.61 ^b	2.70 ^b	2.61 ^b	3.70 ^a	3.81 ^a	0.23	0.010

^{a, b, c} Mean values in the same row with different superscript letters were significant. (n = 10).
 CFU, Colony Forming Unit.

مواد غشایی از سلولها به محیط خارجی می شوند. استفاده از اسانس های گیاهی در جیره طیور، ضمن بهبود
 جمعیت میکروبی از راه افزایش تعداد لاکتوباسیلها، با بهبود صفات ریخت شناسی روده، احتمالاً سبب بهبود
 توانایی هضم و جذب دستگاه گوارش و ارتقاء بازده رشد جوجه های گوشتی می شود (Ghazanfari et al., 2015).
 از معایب وجود میکروب های مضر در دستگاه گوارش، افزایش تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد هضمی،
 فعالیت دی آمیناسیونی پروتئین و اسیدهای آمینه مصرفی و نیز افزایش سرعت تجزیه آنها در اثر ترشح
 موادی از قبیل آنزیم اوره آز به وسیله میکروب ها است و با توجه به اینکه کاربرد گیاهان دارویی سبب کاهش
 سرعت تجزیه پروتئین و اسیدهای آمینه مواد گوارشی کاهش یافته و مقادیر بیشتری از آنها جذب و در بدن
 ذخیره می شوند و منجر به بهبود بازده لاشه و کاهش تبدیل پروتئین به چربی شده و مقادیر کمتری چربی نیز
 میتواند در بدن تجمع یابد (Ghazanfari et al., 2015).

تأثیر تیمارهای آزمایشی بر سطح هورمون‌های تیروئیدی

تأثیر سطوح مختلف نانوذرات سینامون بر سطح هورمون‌های تیروئیدی جوجه‌های گوشتی در سن ۶ هفتگی در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد در حالی که مکمل‌سازی نانوذرات سینامون تأثیر معنی‌داری بر سطح هورمون TSH سرم جوجه‌های گوشتی نداشت، در سطح ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خوراک سبب کاهش معنی‌داری هورمون T3 و افزایش معنی‌دار هورمون T4 سرم جوجه‌های گوشتی شد ($P < 0.05$).

آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی به طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش تولید هورمون‌های تیروئیدی می‌شوند (Brewer *et al.*, 2011; Mirazi *et al.*, 2013). اثرات آنتی‌اکسیدانی دارچین در تحقیقات قبلی گزارش شده است (Behrooz Lak *et al.*, 2014; Fathi *et al.*, 2017). افزایش تولید هورمون‌های تیروئیدی تقریباً همیشه وزن بدن را کاهش داده و کاهش تولید هورمون‌های تیروئیدی تقریباً همیشه وزن بدن را افزایش می‌دهد؛ اما این اثرات همیشه به وجود نمی‌آیند؛ زیرا هورمون‌های تیروئید اشتها را زیاد می‌کند و ممکن است بر اثرات ناشی از تغییر متابولیسم غلبه کند و همچنین هورمون تیروئید بر روی دستگاه گوارش اثر گذاشته و علاوه بر افزایش سرعت جذب مواد غذایی، میزان ترشح شیرهای گوارشی و همچنین حرکات دستگاه گوارش را زیاد می‌کند و همراه این افزایش ترشح و حرکت، اشتها نیز زیاد می‌شود (Karimi *et al.*, 2018).

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این آزمایش، به نظر می‌رسد مکمل جیره‌ای نانوذرات سینامون احتمالاً از طریق بهبود ترشح آنزیم‌های گوارشی، سلامتی روده و همچنین بهبود عملکرد غده تیروئید، سبب افزایش عملکرد رشد و کاهش

جدول ۵- پروفایل هورمون‌های تیروئیدی جوجه‌های گوشتی تحت تأثیر جیره ای نانوذرات سینامون در سن ۶ هفتگی

Table 5. Thyroid hormones profile of broiler chicks as affected by dietary supplementation of cinnamon nanoparticles (CNPs) at 6 wk of age.

فراسنجیه Items	CNPs level (mg/kg diet)					SEM	P-Value
	0	150	300	450	600		
T3 (µg/dl)	0.70 ^{ab}	0.68 ^{ab}	0.61 ^b	0.55 ^{bc}	0.41 ^d	0.03	0.201
T4 (µg/dl)	0.58 ^b	0.60 ^b	0.59 ^b	0.60 ^b	0.69 ^a	0.02	0.010
TSH (mIU/l)	1.34	1.29	1.32	1.25	1.15	0.06	0.17

^{a, b, c} Mean values in the same row with different superscript letters were significant. (n = 10).

تلفات در جوجه‌های گوشتی شود. بر این اساس مناسب‌ترین سطح نانوذرات سینامون در جیره جوجه‌های گوشتی سطح ۴۵۰ میلی‌گرم خواهد بود.

References

- 1- Asadi Siah Choghaei, F., Akbari Gharaei, M., Saifali Varmaghani, S., kamran taherpour, K., & Shamsollah, M. (2022). Effect of different levels of guar gum and β -mannanase on the performance and immune response of broiler. *Animal Science Research*, 32(1):31-44. (In Persian). <https://doi.org/10.22034/AS.2022.36969.1534>
- 2- AL-Kassie, G.A.M. (2009). Influences two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, 29: 169-173.
- 3- Ali, S., Mukhtar, M., Manzoor, S. (2014). Effect of garlic, black seed and turmeric on the growth of broiler chicken. *Pakistan Journal of Nutrition*, (13) 4, 204–210. <https://doi.org/10.3923/pjn.2014.204.210>.
- 4- Anguo, C., Jinxin, X., Caimei, Y., & Qihua, H., (2008). Effect of cinnamon extract on growth performance and excreta urease activity and nitrogen loss in broilers. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*, <https://elibrary.asabe.org/abstract.asp>.
- 5- Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158: 1-14.
- 6- Behrooz Lak, M.A., Abadi, A.H., Hassan Nasiri Moghadam, H., & Kermanshahi, H. (2014). Effect of different levels of Cinnamon Powder, with Antibiotic and Probiotic on Performance and Carcass characteristics of Broiler Chickens. *Research on Animal Production*, Vol. 5(9), 25-35. (In Persian).
- 7- Brewe, M. S. (2011). Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Application. *Comprehensive review in food. Science Food Safety*, 10(4): 221-247.
- 8- Ciftci, M., U.G. Simsek, A. Yuce, O. Yilmaz., & Dalkilic, B. (2010). Effects of dietary antibiotic and Cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, 79: 33-40.
- 9- Corduk, M.N., Ceylan, N., Dede, C., & Tel, O. (2008) .Effects of novel feed additives on performance, carcass traits and E. coli, aerobic bacteria and yeast counts in broilers. *Archive fur Geflugelkunde*, 72: 61-67.
- 10- Cross, D. E., Mc Devitt, R. M., Hillman, K., & Acamovic, T. (2007). The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. *British Poultry Science*, 48, 496-506. doi: 10.1080/00071660701463221.
- 11- Fathi, M., Nik Guo, A., & Mehri, M. (2017). 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*, 8 (17), 18-25. (In Persian).
- 12- Gaique, T. G., Bruna P Lopes, Luana L Souza, Gabriela S M Paula, Carmen C Pazos-Mourab & Karen J Oliveira. 2016. Cinnamon intake reduces serum T3 level and modulates tissue-specific expression of thyroid hormone receptor and target genes in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96: 2889–2895. doi: 10.1002/jsfa.7460.
- 13- Ghasemi, H. A., Kasani, N., & Taherpour, K. (2014). Effects of black cumin seed (*Nigella sativa* L.), a probiotic, a prebiotic and a synbiotic on growth performance, immune response and blood characteristics of male broilers. *Livestock Science*, 164: 128–134. doi: 10.1016/j.livsci.2014.03.014.
- 14- Ghazanfari, S. H., Adib Moradi, M., & Rahimi Niat, F. (2015). Effects of different levels of *Artemisia sieberi* essential oil on intestinal morphology characteristics, microflora population and immune system in broiler chickens. *Journal of Veterinary Research*, 70(2), 195-202. doi: 10.22059/jvr.2015.53747.
- 15- Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. D. (2004). Influence of two plant extracts on broiler performance, digestibility and digestive organ size. *Poultry Science*, 83, 169-174. doi: 10.1093/ps/83.2.169.
- 16- Hossain, M. M., Howlader, A. J., Islam, M. N., & Beg. M. A. (2014). Evaluation of locally available herbs and spices on physical, biochemical and economical parameters on broiler production. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 4, (1): 317–322.

- 17- Jamroz, D., Wiliczekiewicz, A., Wiertelicki, T., Orda, J., & Skorupńska, J. (2005). Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *British Poultry Science*, 46(4), 485-493. doi: 10.1080/00071660500191056.
- 18- Karimi, A., Babayan, H., Nemati, Z & Abdi, E. (2018). Effects of transient hypo- and hyper- thyroidism after extreme feed restriction on performance and ascites index of broiler chickens. *Animal Science Research*, 28 (4), 165-180. (In Persian).
- 19- Lee, K.W., Everts, H., Frehner, M., & Beynen, A. C. (2004). Cinnamonaldehyde, but not thymol, counteracts the carboxymethyl cellulose-induced growth depression in female broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 3: 608- 612.
- 20- Markovic, R., Sefer, D., Krstic, M., & Petrujkic, B. (2009). Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 41, 163-169. doi: 10.4067/s0301- 732x2009000200010.
- 21- Mirazi, N., Abdolmaleki, N., & Mahmoodi, M. (2013). Study of Salvia Officinalis Hydroethanolic Extract on Serum Thyroid Hormone Levels in Hypothyroid Male Rat. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences*, 19 (4), 27-35.
- 22- Miraghaee, S. S., Heidary, B., Almasi, H., Shabani, A., Elahi, M., & Modaber, M. H. (2011). Effects of Nigella sativa powder (black seed) and Echinacea purpurea (L.) Moench extract on performance, some blood biochemical and hematological parameters in broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10 (82) 19249–19254. doi:10.5897/AJB11.2891.
- 23- Shams Shargh, M., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomeiri, M., & Moradi, A. (2012). Effects of using plant extracts and a probiotic on performance, intestinal morphology, and microflora population in broilers. *Journal of Applied Poultry Research*, 21, 201-208. doi: 10.3382/japr.2010-00145.
- 24- Sang-Oh, P., Chae-Min, R., Byung-Sung, P., & Jong, H (2013). The meat quality and growth performance in broiler chickens fed diet with cinnamon powder. *Journal of Environmental Biology* 34:127-33.
- 25- Tabak, M., Armon, R., & Neeman, I, (1999). Cinnamon extracts inhibitory effect on Helicobacter pylori. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 269-277.
- 26- Talebi, A., Maham, M., Asri-Rezaei, S., Pournaghi, P., Khorram, M. S., & Derakhshan, A. (2021). Effects of Nigella sativa on Performance, Blood Profiles, and Antibody Titer against Newcastle Disease in Broilers. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-15. doi.org/10.1155/2021/2070375.
- 27- Talha, E., Abbas, E., & Mohamed. E. (2010). Effect of supplementation of Nigella sativa seeds to the broiler chicks' diet on the performance and carcass quality. *International Journal of Agricultural Sciences*, 2: 0975-3710. doi:10.9735/0975-3710.2.2.9-13.
- 28- Zhu, X., Gojzewski, H., Koshkina, O., Frederik R. Wurm. 2024. Accelerated hydrolysis and degradation of polylactide nanocomposites using loaded silica nanocarriers. *Chemical Engineering Journal* 491 (2024) 151903.