



تأثیر سطوح مختلف نانوذرات کورکومین بر کیفیت تخم‌مرغ، فرآیندهای خونی، پاسخ ایمنی و قابلیت هضم آن در مرغ‌های تخم‌گذار

رضا دلیری^۱، حسن کرمانشاهی^۲، ابوالقاسم گلپان^۳، محمود رضا جعفری^۴ و جلیل توکل افشاری^۴

۱ و ۳- دانشجو دکتری تعدیه طیور و استاد دانشگاه فردوسی مشهد
۲- استاد دانشگاه فردوسی مشهد، (نویسنده مسوول: Kermansh@um.ac.ir)
۴- استاد دانشگاه علوم پزشکی مشهد
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۱۲

چکیده

این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیر سطوح مختلف نانو ذرات کورکومین بر شاخص‌های کیفیت تخم‌مرغ، فرآیندهای بیوشیمیایی خون، پارامترهای ایمنی و همچنین قابلیت هضم آن در مرغ‌های تخم‌گذار انجام شد. تعداد ۱۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های - لاین با سن ۶۰ هفتگی در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل چهار تیمار، چهار تکرار و هر تکرار حاوی ده پرنده مورد استفاده قرار گرفت. تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش شامل سطوح مختلف نانو ذرات کورکومین (صفر، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره) بود که از طریق جیره غذایی در اختیار پرندگان قرار گرفت. صفات کمی و کیفی تخم‌مرغ هر دو هفته یکبار ارزیابی شدند. بررسی فرآیندهای بیوشیمیایی سرم در میان و پایان دوره آزمایش انجام گرفت و در هفته ششم آزمایش گلوبول قرمز گوسفندی تزریق شد و سپس در هفته‌های هفتم و هشتم آزمایش فاکتورهای ایمونولوژی سرم مورد ارزیابی قرار گرفت. افزودن سطوح مختلف نانوذره کورکومین اثر معنی‌داری بر ضخامت پوسته نداشت، اما در هفته‌های انتهایی آزمایش بر شاخص رنگ زرده اثر معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). در بررسی فرآیندهای بیوشیمیایی سرم در میان دوره، غلظت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و اسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST)، به طور معنی‌داری تحت تأثیر نانوذره کورکومین قرار گرفت ($p < 0.05$)، اما در پایان دوره آزمایش غلظت کلسترول، LDL و HDL و نسبت بین این دو تحت تأثیر مصرف دوزهای نانوذره کورکومین قرار گرفت ($p < 0.05$). سطح ۴۰۰ میلی‌گرم نانوذره کورکومین بیشترین تیتر آنتی‌بادی را نسبت به تیمار شاهد نشان داد ($p < 0.05$). سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم نانوذره بیشترین میزان هضم و جذب کورکومین را نشان دادند ($p < 0.05$). نانوذره کورکومین در دوزهای کم (۴۰۰ میلی‌گرم) اثرات مثبت و پایدار در پایان دوره آزمایش بر فرآیندهای بیوشیمیایی، ایمونولوژی سرم، قابلیت هضم کورکومین و همچنین بر رنگ زرده تخم‌مرغ داشت.

واژه‌های کلیدی: ایمنی، فرآیندهای خونی، مرغ تخم‌گذار، نانوذرات کورکومین

مقدمه

در بسیاری از کشورها استفاده از گیاهان دارویی به علت اثرات مثبت در تحریک اشتها و رشد، بهبود سیستم ایمنی و اثرات ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد دیابت و هایپرکلسترومیک رواج یافته و نقش مهمی در تغذیه سالم ایفا کرده است. در طب سنتی از زردچوبه به عنوان مهم‌ترین گیاه حاوی ترکیبات و عوامل آنتی‌اکسیدان نام برده‌اند (۶،۲). خواص دارویی زردچوبه در اصل با جزء اصلی و فعال موجود در ریزوم آن، یعنی کورکومین مرتبط است (۴۴،۱۸) که ترکیب زرد یا نارنجی رنگ زردچوبه را تشکیل می‌دهد (۲۲). علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی (۵۰)، خواص متعددی دیگری از جمله تقویت سیستم ایمنی (۲۱،۱۳)، کاهش سطح کلسترول خون و کبد (۳۵،۲۵)، ممانعت از بیماری‌های قلبی عروقی (۲۸،۲۴)، اثرات ضد التهابی و همچنین بهبود عملکرد کبد در ارتباط با کورکومین در آزمایشات متعددی در جوجه‌های گوشتی و حیوانات آزمایشگاهی گزارش شده است (۲۹). همچنین، پتانسیل ضد سرطانی کورکومین در برابر انواع مختلفی از سرطان‌ها (۳۲،۳۰) و اثر محافظتی در مقابل سمیت حاصل از آفات توکسین‌ها نیز در جوجه‌های گوشتی گزارش شده است (۱۲). اما مطالعات کمتری در ارتباط با اثرات مثبت استفاده از کورکومین در جیره مرغ‌های تخم‌گذار انجام شده است. از مهم‌ترین اهداف و دغدغه‌های پرورش‌دهندگان مرغ تخم‌گذار، بهبود فاکتورهای کمی و کیفی تخم‌مرغ و بهبود

سلامت و سیستم ایمنی مرغان تخم‌گذار به‌خصوص در پایان دوره تخم‌گذاری می‌باشد (۳۹،۱۰). کلسترول نقش مهمی در تغذیه و سلامت انسان و کمی و کیفیت تولید تخم‌مرغ در مرغان تخم‌گذار دارد. دلیل مصرف کمتر تخم‌مرغ نیز مرتبط با میزان بالای کلسترول تخم‌مرغ و ارتباط این ماده با بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در انسان است. اما در مورد پرندگان مساله به نحوی متفاوت است به‌طوری‌که کاهش کلسترول سرم خون معمولاً با کاهش تولید تخم‌مرغ همراه است (۳۵). برخی مطالعات انجام گرفته در طیور تخم‌گذار نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدان با کاهش میزان کلسترول سرم خون باعث کاهش اندازه تخم‌مرغ شده و در عین حال با افزایش فراهمی ترکیبات پیش‌ساز زرده درصد تولید تخم‌مرغ را افزایش می‌دهند (۲۴). تولید پوسته تخم‌مرغ در غدد پوسته‌ساز رحم مرغ تخم‌گذار نیز تحت تأثیر استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قرار می‌گیرد این در حالی است که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها باعث کاهش غلظت مالون‌دی‌آلدئید در غدد پوسته‌ساز و سرم خون و بهبود پوسته تخم‌مرغ می‌شود (۳۳،۲۸). افزودن زردچوبه و کورکومین به جیره مرغ‌های تخم‌گذار تأثیر معنی‌داری بر مصرف خوراک نداشت، اما سبب بهبود تولید و ضخامت پوسته تخم‌مرغ شد (۳۷،۲۵). علی‌رغم اثرات مطلوب ذکر شده کورکومین به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی در جیره جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار، مطالعات نشان داده است که توزیع بافتی، جذب و

این عصاره مورد استفاده قرار گرفته است. در این ترکیب دارویی، کورکومین با بازدهی بالا در این نانو حامل‌های پلیمری قرار گرفته و ساختاری کروی با اندازه ۱۰ نانومتر تشکیل می‌دهد. این فرآورده دارویی شامل ۷۵ درصد کورکومین، ۲۰-۱۵ درصد دمتوکسی کورکومین و ۴-۳ درصد بیس دمتوکسی کورکومین به همراه ویتامین C و E به عنوان آنتی‌اکسیدان می‌باشد.

مدیریت سالن پرورش طی دوره آزمایش، بر اساس توصیه‌های راهنمای مدیریت مرغ تخم‌گذارهای -لاین W-36 صورت گرفت (۲۳). صفات تخم‌مرغ شامل صفات کیفی پوسته (ضخامت پوسته) و صفات زرده (رنگ) هر دو هفته یکبار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تخم‌مرغ‌ها برای ارزیابی صفات زرده و پوسته، شکسته شدند. زرده و سفیده توسط فاشقک مخصوص، از هم جدا شده و با استفاده از دستمال کاغذی، آلبومین اضافی تا حد امکان از سطح زرده گرفته شد.

قطر پوسته‌های تخم‌مرغ بعد از وزن‌کشی، به وسیله میکرومتر دیجیتال مدل (Mitutoyo) با دقت ۰/۰۰۱ میلی‌متر از سه ناحیه وسط، بالا و پایین پوسته اندازه‌گیری شد، سپس میانگین حاصله به عنوان ضخامت پوسته تخم‌مرغ منظور گردید (۷).

برای مشخص کردن رنگ زرده از واحد رش استفاده شد. تخم‌مرغ جمع‌آوری شده از واحدهای آزمایشی بر روی ظرف شیشه‌ای شکسته شده و رنگ زرده آنها، توسط چند داور مورد ارزیابی قرار گرفته و نمرات اختصاصی توسط چند فرد به هر یک از آنها با هم جمع شده و متوسط آنها به عنوان نمره نهایی برای آن واحد آزمایشی در نظر گرفته شده و در تجزیه آماری مورد استفاده قرار می‌گرفت (۳۶).

در هفته‌های ۶۴ و ۶۸ دوره آزمایش، به منظور بررسی اثر تیمارهای آزمایشی بر سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، HDL، LDL و نیز فعالیت آنزیم‌های آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST)، دو مرغ به صورت تصادفی از هر تکرار انتخاب شدند و بعد از ده ساعت گرسنگی، ۲/۵ سی‌سی خون از ورید بال به وسیله سرنگ ۵ سی‌سی استریل گرفته شد و نمونه‌های سرم پس از لخته شدن خون، جدا و تا زمان انجام سنجش‌های مربوطه در دمای 20°C ذخیره شدند. فاکتورهای تری‌گلیسرید (روش آنزیمی GPO/Trinder و با کیت تجاری Saline)، کلسترول (روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری زیست شیمی)، HDL (روش آنزیمی CHOD-PAP و با کیت تجاری زیست شیمی) (۴۵)، LDL و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های (ALT) و (AST) سرم خون با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزموون صورت گرفت (۹).

در هفته ششم آزمایش، جهت بررسی اثر استفاده از نانو ذره کورکومین بر سیستم ایمنی همورال، دو مرغ به صورت تصادفی از هر تکرار انتخاب و سوسپانسیون گلبول قرمز شسته شده گوسفند SRBC به میزان ۰/۷ میلی‌لیتر به ازای هر پرند در عضله سینه تزریق شد. یک و دو هفته پس از هر تزریق یعنی در هفته ۶۷ و ۶۸ دوره آزمایش، ۲/۵ سی‌سی

متابولیسم کورکومین به دلیل نامحلول بودن آن در آب و بی‌ثباتی در pH فیزیولوژی کم بوده و دفع آن سریع و در نهایت اثرگذاری آن محدود می‌باشد (۴). بنابراین جهت بهبود اثرگذاری کورکومین به عنوان افزودنی و مکمل دارویی ابتدا باید بر این مشکل غلبه شود. برای غلبه بر حلالیت کم و زیست‌فراهمی پایین، استفاده از نانو ذرات کورکومین پیشنهاد شده است (۵). نسل جدیدی از نانو حامل‌های پلیمری، به منظور افزایش حلالیت آبی این عصاره مورد استفاده قرار گرفته است. به نحوی که به سهولت در آب حل می‌شود و سبب بهبود زیست‌فراهمی آن می‌گردد (۳۴). مطالعات نشان داده است که جذب روده‌ای کورکومین وقتی که به شکل نانومیسل استفاده شده به ۴۷ تا ۵۶ درصد افزایش می‌یابد و نانو حامل مورد استفاده هیچ اثر سمی بر سلول‌ها ندارد (۵). از دیگر خصوصیات مطلوب این ترکیب افزایش مقاومت به pH معده تا پنج ساعت و همچنین تحمل دمای ۶۵ تا ۷۰ درجه را می‌توان نام برد. با توجه به تکنولوژی تولید و اثرات بهبود یافته نانو کورکومین در جذب و متابولیسم نسبت به پودر زردچوبه و کورکومین و از طرف دیگر اثرات مثبت پودر زردچوبه و کورکومین در جوجه‌های گوشتی، احتمال آن داده می‌شد که استفاده از نانوذره کورکومین در جیره مرغ‌های تخم‌گذار، اثرات مطلوبی بر عملکرد، فرآیندهای خون و سیستم ایمنی مرغ‌های تخم‌گذار داشته باشد. بنابراین هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر سطوح مختلف نانوذره کورکومین بر کیفیت تخم‌مرغ، فرآیندهای خونی، ایمنی و همچنین قابلیت هضم آن در مرغ‌های تخم‌گذار بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با هدف ارزیابی اثر سطوح پله‌ای کورکومین نانو شده در جیره بر کیفیت تخم‌مرغ، فرآیندهای خونی، سیستم ایمنی و همچنین میزان قابلیت هضم آن در مرغ‌های تخم‌گذار طی مرحله پایانی دوره تولید (۶۰ تا ۶۸ هفته) طراحی و در مزرعه تجاری مرغ تخم‌گذار ۱۰۰۰۰۰ قطعه‌ای ثامن واقع در مشهد اجرا شد. تعداد ۱۶۰ قطعه مرغ تخم‌گذار سویه‌های -لاین W-36 با سن ۶۰ هفته در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل بر چهار تیمار، چهار تکرار (هر دو قفس پنج‌تایی مجاور بعنوان یک تکرار اختصاص داده شد) و هر تکرار حاوی ده پرند مورد استفاده قرار گرفت. جیره پایه بر مبنای ذرت و کنجاله سویا بود و برای تأمین حداقل احتیاجات مغذی مورد نیاز مرحله تولید مرغ‌های تخم‌گذار با سن ۶۰ هفته تنظیم شد. تیمارها حاوی سطوح مختلف نانو ذرات کورکومین (صفر، ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم) بود که از طریق جیره غذایی در اختیار پرندگان قرار گرفت. روند تهیه و تولید نانو ذرات کورکومین توسط گروه داروسازی پژوهشکده بوعلی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد انجام شد. کورکومین خالص جهت فراوری نانو از شرکت سامی لب (با بیش از ۹۶ درصد خلوص) تهیه و محصول مورد نظر توسط شرکت اکسیرسینا نانو با شماره IRC:1228225765 تجاری‌سازی شده است. نانوذره کورکومین نسل جدیدی از نانو حامل‌های پلیمری است که به منظور افزایش حلالیت آبی

جمع‌آوری کود برداشته شد، فضولات دفعی به مدت ۴۸ ساعت در دمای ملایم محیط قرار گرفت تا کاملاً خشک شود. شایان ذکر است فلس‌ها، پر و سایر ضایعات احتمالی جدا شد، سپس در آزمایشگاه در آن قرار داد شد تا کاملاً خشک شود. مقدار جیره مصرفی هر قفس در طی سه روز آزمایش با کسر جیره باقی‌مانده تعیین شد، نمونه‌های مدفوع پس از جمع‌آوری، آسیاب شد سپس نمونه‌ها با متانول رقیق گردید و رسوب حاصل توسط سانتریفوژ (۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه) جداسازی شد. متانول توسط جریان گاز نیتروژن حذف گردید و مقدار ۲۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC (شیماتزو، ژاپن) تزریق شد. در این مطالعه از روش USP (فارماکوپه آمریکا) به منظور تعیین مقادیر کورکومین مورد استفاده قرار گرفت. فاز متحرک متشکل از تتراهیدروفوران و محلول اسید سیتریک بوده و ستون کروماتوگرافی از نوع C18*4.6*250mm و در طول موج ۴۲۵ نانومتر نمونه‌ها مورد آنالیز قرار گرفت (۲۵).

داده‌های خام مربوط به تمام فرآیندها پس از سازماندهی و پردازش در برنامه اکسل، با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab 17 از لحاظ وجود داده پرت و نرمال بودن توزیع داده‌ها مورد بررسی قرار گرفتند، و پس از حذف داده‌های پرت احتمالی، کلیه داده‌ها در قالب طرحی کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار SAS (۹/۱) مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند (۴۷). برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد (۵۲) (جدول ۱).

مدل آماری طرح به صورت زیر می‌باشد

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \Sigma_{ij}$$

Y: مقدار هر مشاهده، μ : میانگین صفت مورد مطالعه،

T_i: اثر تیمار، Σ_{ij} : خطای آزمایش

خون از ورید بال به وسیله سرنگ ۵ سی‌سی استریل گرفته شد، سپس طی مراحل تیترا آنتی‌بادی علیه آن تعیین گردید. عیار کل آنتی‌بادی تولیدی علیه SRBC، آنتی‌بادی‌های مقاوم به ۲-مرکاپتواتانل (2ME)(IgG) و حساس به 2ME(IgM) با روش هم‌آگلوتیناسیون اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری Total anti-SRBC، ۵۰ μ l از نمونه سرم با ۵۰ μ l بافر فسفات سالین در داخل پلیت میکروتیتر مخلوط شد و سپس رقت‌های سریال از ۱/۲ الی ۱/۲۵۶ از سرم تهیه شد. در مرحله بعدی ۵۰ μ l از محلول سوسپانسیون SRBC ۲ درصد به هر چاهک اضافه شد و بعد به مدت ۴ الی ۵ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. تیترا بر اساس Log₂ بیشترین رقتی که آگلوتیناسیون کامل را نشان می‌داد بیان شد و چنانچه رقت بالاتر آگلوتیناسیون نسبتی نشان می‌داد یک نقطه حد واسط در نظر گرفته می‌شد. آنتی‌بادی‌های حساس به 2ME به این صورت تعیین شده که ۵۰ μ l از نمونه سرم با ۵۰ μ l بافر فسفات سالین حاوی ۰/۲M، ۲-مرکاپتواتانل در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد و سپس رقت‌های سریال از ۱/۲ الی ۱/۲۵۶ از آن تهیه شد و بعد از آن ۵۰ μ l محلول سوسپانسیون SRBC ۲٪ به هر چاهک اضافه شد. آنتی‌بادی مقاوم به 2ME از کسر آنتی‌بادی حساس به 2ME از کل تیترا anti-SRBC (۳۸،۱۱) به دست آمد.

تعیین قابلیت هضم کورکومین در سن ۶۸ هفتگی انجام شد. جهت اندازه‌گیری قابلیت هضم، ابتدا مرغ‌ها در قفس انفرادی قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت به آن‌ها خوراک به صورت آزاد داده شد تا به شرایط جدید عادت کنند. سپس جهت تخلیه دستگاه گوارش ۲۴ ساعت گرسنگی داده شد. بعد از آن سینی‌هایی در زیر هر کدام از قفس‌ها قرار داده شد و خوراک‌هایی حاوی درصد‌های مختلف کورکومین به مدت ۷۲ ساعت به پرند خوراندند، در دوره جمع‌آوری کود، پس از اعمال ۱۲ ساعت محرومیت از غذا سینی مخصوص

جدول ۱- مواد خوراکی و ترکیب جیره پایه

Table 1. Edible foods and basal diet composition

اقلام خوراکی و مواد مغذی جیره پایه		
اقلام خوراکی	مقدار در جیره (%)	ترکیب مواد مغذی تأمین
ذرت	۶۳/۳۵	انرژی (Kcal/Kg) ۲۷۰۰
کنجاله سویا (۴۴٪)	۲۲/۲	پروتئین (%) ۱۵
روغن (روغن گیاهی)	۱	کلسیم (%) ۴/۴۵
نمک	۰/۲۵	فسفر قابل دسترس (%) ۰/۴۱
جوش شیرین	۰/۱۵	لیزین (%) ۰/۷۵
مونوکلسیم فسفات	۱/۴	متیونین (%) ۰/۴۰
متیونین	۰/۱۵	ترئونین (%) ۰/۵۶
کربنات کلسیم	۱۱	
مکمل دوقلو تخم‌گذار	۰/۵	

نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف نانو کورکومین بر کیفیت تخم‌مرغ در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن سطوح مختلف نانو کورکومین به جیره تاثیر معنی‌داری بر ضخامت پوسته در هیچ‌کدام از هفته‌های آزمایش نداشت. پیش از این مطالعه‌ای در ارتباط با اثر نانو کورکومین بر خصوصیات کیفی پوسته تخم‌مرغ مشاهده نشد، موافق نتایج حاضر، استفاده از پودر زردچوبه به عنوان منبع کورکومین در سطوح مختلف در جیره مرغ‌های تخم‌گذار هیچ تاثیری بر شاخص‌های کیفی پوسته تخم‌مرغ نشان نداد (۴۶،۳۱). استفاده از سطوح مختلف پودر زردچوبه در جیره بلدرچین‌های تخم‌گذار نیز تاثیری بر خواص کیفی پوسته تخم بلدرچین نشان نداد (۴۴۶). این جدول همچنین اثر سطوح مختلف نانو کورکومین بر یکی از صفات کیفیت داخلی تخم‌مرغ را نشان می‌دهد. شاخص رنگ زرده در پاسخ به افزودن نانو کورکومین تغییر یافت که این تغییر در دو هفته ابتدایی آزمایش معنی‌دار نبود، اما در هفته ۶۶ سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم نانومیسل و در هفته ۶۸ آزمایش در تمامی سطوح نانومیسل افزایش شاخص رنگ زرده دیده شد ($p < 0.05$). در واقع کورکومین

رنگدانه‌ای طبیعی است که با افزودن آن به جیره رنگ زرده ممکن است تا حدودی بهبود یابد (۲۸). از سوی دیگر، کورکومین به عنوان ترکیبی آنتی‌اکسیدان از طریق کاهش پراکسیدان رنگدانه‌های پیش‌ساز زرده به بهبود کیفیت زرده کمک می‌کند (۲۹،۲۶). گزارش شده است که افزودن پودر زردچوبه به جیره مرغ‌های تخم‌گذار سبب بهبود کیفیت در رنگ زرده تخم‌مرغ شد (۳۱).

تأثیر سطوح مختلف نانو کورکومین بر برخی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون مرغان تخم‌گذار در جدول ۳ نشان داده شده است. در ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم که در سن ۶۴ هفتگی (میان دوره) انجام شد، استفاده از نانو کورکومین اثر معنی‌داری بر اکثر فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده نداشت. اما در پایان دوره آزمایش تنها غلظت تری‌گلیسریدها و آنزیم‌های کبدی تحت تاثیر تیمارهای قرار نگرفت. همان‌طور که گفته شد، ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم میان‌دوره در این آزمایش اثری بر اکثر فراسنجه‌های سرم نداشت اما بر آنزیم‌های کبدی تاثیر معنی‌داری داشت.

جدول ۲- تاثیر سطوح مختلف نانوذرات کورکومین بر شاخص‌های کیفیت تخم‌مرغ

Table 2. The effect of different levels of curcumin nano particle on egg quality traits

P- Value	†SEM	سطوح نانوذره کورکومین در جیره (میلی‌گرم در کیلوگرم)					سن (هفته)
		۱۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	صفر	صفت	
۰/۷۸۸	۰/۱۹۶	۷/۰۰	۷/۰۰	۷/۰۰	۶/۲۵	رنگ زرده	۶۲
۰/۸۱۸	۰/۰۰۴	۰/۴۰۴	۰/۴۱۰	۰/۴۱۱	۰/۴	ضخامت پوسته (میلی‌متر)	
۰/۱۱۸	۰/۱۲۹	۷/۰۰	۷/۲۵	۷/۲۵	۶/۵۰	رنگ زرده	۶۴
۰/۸۵۱	۰/۰۱۲	۰/۴۰۵	۰/۴۰۷	۰/۴۰۹	۰/۴۰۲	ضخامت پوسته (میلی‌متر)	
۰/۰۳۵	۰/۲۰۸	۷/۲۵ ^{ab}	۷/۵۰ ^a	۷/۷۵ ^a	۶/۲۵ ^b	رنگ زرده	۶۶
۰/۸۹۱	۰/۰۰۱	۰/۴۰۸	۰/۴۱۰	۰/۴۱۰	۰/۴۰۸	ضخامت پوسته (میلی‌متر)	
۰/۰۴۵	۰/۲۳۶	۷/۵۰ ^a	۷/۷۵ ^a	۷/۷۵ ^a	۶/۲۵ ^b	رنگ زرده	۶۸
۰/۹۳۰	۰/۰۰۴	۰/۴۱۷	۰/۴۱۹	۰/۴۲۳	۰/۴۱۵	ضخامت پوسته (میلی‌متر)	

a و b: اعدادی که در هر ستون با حروف متفاوت علامت‌گذاری شده‌اند دارای اختلاف معنی‌داری هستند ($p < 0.05$). SEM: خطای معیار میانگین‌ها

به‌طوریکه در سن ۶۴ هفتگی بیشترین مقدار آنزیم آسپارات ترانس آمیناز در تیمار شاهد مشاهده شد و افزودن ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو کورکومین به جیره به‌طور معنی‌داری غلظت آنزیم آسپارات ترانس آمیناز را در سرم کاهش داد ($p < 0.05$)، همچنین کمترین مقدار آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز مرتبط با تیمار شاهد بود و افزودن ۱۲۰۰ میلی‌گرم نانوذره به جیره توانست به طور معنی‌داری سطح این آنزیم را افزایش دهد ($p < 0.05$). فعالیت برخی آنزیم‌های کبدی نظیر آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) و آسپارات آمینو ترانسفراز (AST) به‌عنوان شاخص کارکرد کبد و همچنین شاخص مسمومیت سلول‌های کبدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. احتمالاً استفاده از مقادیر کم نانو کورکومین در جیره مرغ‌های تخم‌گذار به خاطر اثر آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اثر مثبتی بر عملکرد کبد نسبت به تیمار شاهد داشته اما بلعکس در مواجهه با مقادیر بالای نانو کورکومین دچار تنش و شاید مسمومیت شده و پاسخ آن به صورت تغییرات در فعالیت

ALP و AST متجلی شده است. اما به مرور زمان بدن پرنده با این تیمارها سازگار شده و به‌همین دلیل در ارزیابی پایان دوره تفاوت معنی‌داری از این حیث بین تیمارها مشاهده نشد. در مطالعات قبلی استفاده از پودر زردچوبه در جیره مرغ‌های تخم‌گذار و گوشتی در برخی موارد بی‌تاثیر و در برخی موارد باعث کاهش (۱۳،۱) و در برخی موارد نیز باعث افزایش فعالیت ALT و AST (۴۸،۱۶) شده است که احتمالاً به شکل و دوز استفاده از آن بر می‌گردد. با توجه به خاصیت ضدسمی، محافظ کبدی و آنتی‌اکسیدانی ماده موثره زردچوبه می‌توان گفت نانو کورکومین با غیر فعال نمودن متابولیت‌های سمی سبب بالا رفتن ظرفیت سم‌زدایی و آنتی‌اکسیدانی کبد می‌شود (۲۷،۴۲).

در پایان دوره آزمایش نتایج کاملاً متفاوت بود، در ارتباط با کلسترول تام، استفاده از نانو کورکومین در تمامی سطوح باعث کاهش معنی‌دار کلسترول تام نسبت به گروه شاهد شد ($p < 0.05$). استفاده از سطوح مختلف نانو کورکومین در جیره

همکاران نیز افزایش معنی‌دار در تیتراز آنتی‌بادی جوجه‌های گوشتی تغذیه شده با یک گرم کورکومین به ازای هر کیلوگرم را گزارش کرد (۳۰). اسوال و همکاران نیز افزایش در تیتراز حاصل از هم‌گلو‌تینین‌شن مرغ‌های تخم‌گذار تغذیه شده با زردچوبه را گزارش کرد (۴۹). کرمانشاهی و ریاضی نیز افزایش تیتراز ایمنوگلوبولین‌های A، M و G در جوجه‌های تغذیه شده با زردچوبه را گزارش کردند (۲۹).

یافته‌های بدست آمده توسط این محقق قبلاً نشان داده بود که استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مثل ویتامین E و آلفاتوکوفرول اثر مثبتی بر پاسخ ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی دارد. در تحقیقی استفاده از آنتی‌اکسیدان طبیعی عیار پادتن IgG و IgM و آنتی‌بادی تام ضد گلبول قرمز را بهبود بخشید (۱۱۰،۱۱۱). نشان داده شد که استفاده از پودر زردچوبه در سطوح مختلف اثری بر پاسخ سیستم ایمنی همورال جوجه‌های گوشتی نداشته است (۲۶،۱۳). اما در مطالعه دیگری استفاده از عصاره پودر زردچوبه اثر مثبتی بر پاسخ آنتی‌بادی بر علیه ویروس نیوکاسل داشت. در تمامی گزارشات نقش کورکومین در تنظیم پاسخ ایمنی و عملکرد لنفوسیت‌ها نشان داده شده است (۴۰،۱۷). نتایج این مطالعه نیز نشان می‌دهد نانو کورکومین اثر مثبتی بر پاسخ ایمنی همورال داشته است که احتمالاً اثر مثبت نانوذره نسبت به پودر زردچوبه و کورکومین بر سیستم ایمنی را نشان می‌دهد.

جدول ۵ قابلیت هضم نانو کورکومین را نشان داده است، همانطور که مشاهده می‌شود سطح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای بیشترین سطح جذب بوده و از حیث آماری نسبت به تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$). سطح ۱۲۰۰ میلی‌گرم نیز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با شاهد و دو تیمار دیگر داشت ($p < 0.05$). داده‌ها نشان می‌دهد با افزایش دز مصرف، میزان قابلیت هضم کورکومین روندی رو به کاهش دارد. در مصارف زیاد کورکومین هیچ سمیتی در انسان و حیوان گزارش نشده اما با وجود مصارف زیاد، سطح کورکومین سرم کمتر از یک درصد کورکومین مصرفی بود و کبد بیشتر آن را تخریب می‌کرد. مطالعات حیوانی متعددی نشان داده که کورکومین در بدن سریعاً متابولیزه، در کبد باند و عمدتاً از طریق مدفوع و مقدراری نیز از راه ادرار به دلیل زیست‌فراهمی پایین کورکومین دفع می‌شود. کورکومین به طور ضعیفی توسط دستگاه گوارش انسان، پرنده و همچنین در محیط‌های اسیدی جذب می‌شود چرا که آنها به سختی در آب حل می‌شوند و به تغییرات pH فیزیولوژیک بدن حساس هستند. محدودیت اصلی استفاده از آنها، انحلال‌پذیری بسیار کم و متابولیسم سریع آنها است به علاوه جذب آنها از طریق معده و روده بسیار ضعیف است، یک لایه سطحی آب بر روی لایه اپیتلیال روده وجود داشته که مواد برای جذب شدن باید در این لایه حل شده و سپس عبور کنند.

با کاهش معنی‌دار غلظت LDL، افزایش معنی‌دار HDL و همچنین نسبت HDL:LDL در نمونه‌های سرم اخذ شده نسبت به گروه شاهد توأم بود ($p < 0.05$). نکته قابل توجه این بود که کمترین غلظت LDL، بیشترین غلظت HDL و همچنین بیشترین نسبت HDL:LDL مربوط به سرم مرغ‌های تغذیه شده با ۴۰۰ میلی‌گرم نانو کورکومین بود. برخلاف یافته‌های ما، برخی از محققین از عدم تأثیر زردچوبه بر غلظت کلسترول تام در سرم جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار را گزارش کردند (۱۴۸)، اما در بیشتر تحقیقات استفاده از پودر زردچوبه و کورکومین باعث کاهش معنی‌دار کلسترول تام و LDL شده است. گزارش شده زردچوبه با افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسیدانی باعث کاهش پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود. گروه‌های فنلی موجود در ساختار کورکومین نقش مهمی بر جلوگیری پراکسیدان لیپیدها دارد این گروه‌ها توانایی برداشت رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپراکسیدها و اکسید نیتریک را دارد، کورکومین با افزایش فعالیت آنزیم‌هایی همچون گلوکاتانیون پراکسیداز، سوپراکسید دیس موتاز و همچنین کاتالازها نقش آنتی‌اکسیدانی خود را می‌تواند ایفا کند (۴۱،۳۳،۱۵). گزارش شده کورکومین توانسته حساسیت LDL را به اکسید شدن کاهش دهد. اثر هایپوکسترومیک کورکومین به علت توانایی تبدیل کلسترول به اسید صفراوی می‌باشد و این یکی از مهم‌ترین راه‌های برداشت کلسترول می‌باشد. کورکومین از طریق تحریک کبد به افزایش تولید آنزیم کلسترول هیدروکسیلاز توانایی تبدیل کلسترول به اسید صفراوی را افزایش می‌دهد (۴۳،۲۷،۱۳،۸). جدول ۴ تأثیر سطوح مختلف نانو کورکومین بر سیستم ایمنی همورال مرغ‌های تخم‌گذار را نشان می‌دهد. عیار کل آنتی‌بادی تولیدی علیه SRBC، IgG و IgM در هفته‌های ۶۷ و ۶۸ معنی‌دار بود ($p < 0.05$), سطح ۴۰۰ میلی‌گرم نانو کورکومین بالاترین پاسخ ایمنی را در اکثر صفات نشان داد، به‌طوری‌که با تیمار شاهد که هیچ افزودنی به خوراک آنها اضافه نشده بود اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$), اما با تیمارهای ۸۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌گرم نانومیسل اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. سیستم ایمنی در میان دیگر سیستم‌های عملکردی بدن از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است، به‌طوری‌که موجب افزایش پایداری بدن در برابر بسیاری از اختلالات و نارسای‌های فیزیولوژیک شده و از بروز بیماری‌های مختلف جلوگیری می‌کند. بدیهی است عوامل بی‌شماری می‌توانند در جهت تقویت و یا تضعیف این دستگاه حیاتی بدن نقش ایفا کنند. سلطان گزارش کرد سطح بالای زردچوبه (۵/۰ الی ۱ درصد) به‌خاطر ماده موثر موجود در زردچوبه توانست میزان لوکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها را افزایش دهد، کورکومین موجود در آن از طریق ممانعت از سیتوکین‌های التهابی و همچنین جلوگیری از سنتز اکسید نیتریک اثرات ضد التهابی خود را نشان می‌دهد (۳). کوماری و

جدول ۳- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات کورکومین بر فرآیندهای بیوشیمیایی سرم خون مرغ‌های تخم‌گذار
 Table 3. The effect of different levels of curcumin nano particles on biochemical serum characteristics in laying hens
 سطوح نانوذره کورکومین در جیره (میلی‌گرم در کیلوگرم)

P-value	SEM†	۱۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	صفر	فراسنجه‌ها	سن (هفته)
۰/۱۹۶۷	۳/۱۹۴	۱۶۳/۵۰	۱۵۹/۵۰	۱۵۰/۲۵	۱۶۹/۲۵	کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۸۳۱۸	۱۵/۰۱۹	۳۳۶۵/۶۷	۳۲۵۲/۰۰	۳۲۳۵/۵۰	۳۲۷۵/۷۵	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۹۷۳۴	۰/۵۲۶	۳۲/۵۰	۳۳/۷۵	۳۴/۲۵	۳۳/۷۵	HDL (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۱۵۶۱	۳/۳۱۸	۱۶۰/۲۵	۱۵۷/۵۰	۱۵۰/۷۵	۱۴۰/۷۵	LDL (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	۶۴ هفته‌گی
۰/۲۶۶۴	۰/۰۰۶	۰/۲۰۹	۰/۲۱۵	۰/۲۳۹	۰/۲۴۲	HDL:LDL	
۰/۰۴۴۶	۱/۴۰۹	۱۳۷/۲۵ ^{ab}	۱۳۵/۵۰ ^{ab}	۱۳۰/۷۵ ^b	۱۴۱/۲۵ ^a	AST (واحد بر لیتر)	
۰/۰۰۷۵	۰/۶۵۸	۲۷/۰۰ ^a	۲۲/۷۵ ^b	۲۲/۵۰ ^b	۲۲/۰۰ ^b	ALT (واحد بر لیتر)	
۰/۰۰۹	۴/۳۳۸	۱۶۰/۰۰ ^b	۱۵۷/۵۰ ^b	۱۵۰/۲۵ ^b	۱۸۵/۰۰ ^a	کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۶۹۶۰	۲۶/۷۸۳	۳۲۰۹/۰۰	۳۱۹۹/۲۵	۳۱۹۶/۰۰	۳۲۷۹/۷۵	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۰۴۷۲	۰/۶۹۹	۳۴/۰۰ ^{ab}	۳۴/۲۵ ^{ab}	۳۵/۷۵ ^a	۳۰/۷۵ ^b	HDL (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	
۰/۰۰۰۱	۲/۵۶۰	۱۴۱/۲۵ ^b	۱۳۲/۷۵ ^c	۱۲۹/۵۰ ^c	۱۵۳/۷۵ ^a	LDL (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	۶۸ هفته‌گی
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۸	۰/۲۴۰ ^b	۰/۲۵۸ ^{ab}	۰/۲۷۶ ^a	۰/۲۰۰ ^c	HDL:LDL	
۰/۸۱۵۱	۶/۵۶۵	۱۵۰/۲۵	۱۴۴/۵۰	۱۳۶/۰۰	۱۵۴/۲۵	AST (واحد بر لیتر)	
۰/۸۹۴۶	۱/۲۷۳	۲۳/۲۵	۲۳/۰۰	۲۱/۲۵	۲۲/۵۰	ALT (واحد بر لیتر)	

a-c: اعدادی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت علامت گذاری شده اند دارای اختلاف معنی داری هستند (p<۰/۰۵). SEM†: خطای معیار میانگین‌ها

طریق خوراکی می‌شود (۵،۴،۲۰،۱۹،۲۲،۳۴،۳۷،۵۱). استفاده از نانو کورکومین اثرات مثبتی بر خواص کیفی پوسته نداشت، نانومسیل‌ها در تمامی سطوح به‌ویژه سطح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در قیاس با سطح صفر آن توانست رنگ زرده را بهبود بخشد. نانو ذره‌ها در سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم جیره موجب کاهش LDL و در سطح ۴۰۰ آن افزایش HDL سرم و نسبت HDL:LDL گردید، که این فاکتورها می‌تواند دللیلی برای کاهش بیماری‌های قلبی عروقی و همچنین جلوگیری از چربی‌دار شدن کبد باشد. افزودن نانو کورکومین در سطح ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست بیشترین پاسخ سیستم ایمنی را به خود اختصاص دهد. همچنین سطوح ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم آن بیشترین جذب را نسبت به تیمارهای دیگر دارا بود. مطالعات بیشتری لازم است تا اثرات بیشتر آنها به جیره مرغ‌های تخم‌گذار در سلامتی انسان مشخص شود.

کورکومین یک ماده لیپوفیک بوده و به مقدار ناچیز در این لایه حل و در نهایت جذب می‌شود، یافته‌های ما نیز تأییدی بر این یافته‌ها بوده و مطابق با نتایج سایر محققین می‌باشد. با توجه به ماهیت لیپوفیل کورکومین جذب آن پایین بوده، مواد نانو مقیاس به‌خاطر ویژگی منحصر به فردی نسبت سطح به حجم ذرات، محافظت از کورکومین در برابر تخریب آنزیمی و توانایی عبور از موانع بیولوژیکی بدن می‌توانند، میزان نیمه عمر و فراهمی زیستی آن را افزایش دهد، بگونه‌ای که تمام کورکومین در بخش هیدروفوبیک نانوذره محبوس می‌شود و این نانو ذره‌های کروی به اندازه ۱۰ نانومتر می‌باشد که این امر باعث افزایش حلالیت کورکومین در آب می‌شود. نانو ذره‌ها پس از رسیدن به روده کوچک، انتقال کورکومین را از لایه آب دست نخورده موجود در سطح سلول‌های اپیتلیال روده‌ای که یک سد در برابر جذب ترکیبات محلول در چربی می‌باشد را تسهیل نموده و باعث افزایش جذب کورکومین از

جدول ۴- تأثیر سطوح مختلف نانوذرات کورکومین بر سیستم ایمنی همورال مرغ‌های تخم‌گذار (log₂)
 Table 4. The effect of different levels of curcumin nano particle on humeral immune response in laying hens
 سطوح نانوذره کورکومین در جیره (میلی‌گرم در کیلوگرم)

P-Value	SEM†	۱۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	صفر	صفت	سن (هفته)
۰/۰۲۴۵	۰/۱۴	۹/۰ ^{ab}	۹/۲ ^{ab}	۹/۶ ^a	۸/۶ ^b	Total-Anti SRBC	
۰/۰۴۲۱	۰/۱۱	۷/۰ ^{ab}	۷/۱ ^{ab}	۷/۴ ^a	۶/۷ ^b	IgG	۶۷ هفته‌گی
۰/۰۱۰۰	۰/۰۶	۲/۰ ^{ab}	۲/۱۰ ^{ab}	۲/۲ ^a	۱/۹ ^b	IgM	
۰/۰۳۶۵	۰/۱۸	۹/۷۰ ^{ab}	۱۰/۱۰ ^{ab}	۱۰/۳۰ ^a	۹/۰ ^b	Total-Anti SRBC	
۰/۰۲۳۴۱	۰/۱۲	۷/۳۰ ^{ab}	۷/۵۰ ^b	۷/۲۰ ^{ab}	۷/۰ ^b	IgG	۶۸ هفته‌گی
۰/۰۱۵۶	۰/۰۷	۲/۴ ^{ab}	۲/۶ ^{ab}	۳/۱ ^a	۲/۰ ^b	IgM	

a و b: اعدادی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت علامت گذاری شده اند دارای اختلاف معنی داری هستند (p<۰/۰۵). SEM†: خطای معیار میانگین‌ها

جدول ۵- میزان قابلیت هضم نانوذرات کورکومین به روش جمع‌آوری کل مدفوع در مرغ‌های تخم‌گذار
 Table 5. Digestibility of Curcumin nano particle using total excreta in laying hens
 سطوح نانوذره کورکومین در جیره (میلی‌گرم در کیلوگرم)

P value	†SEM	۱۲۰۰	۸۰۰	۴۰۰	صفر
۰/۰۰۰۱	۹/۰۲۷	۰/۷۰ ^b	۰/۷۶ ^a	۰/۸۰ ^a	۰/۰ ^c

a-c: اعدادی که در هر ستون با حروف لاتین متفاوت علامت گذاری شده اند دارای اختلاف معنی‌داری هستند (p<۰/۰۵). SEM†: خطای معیار میانگین‌ها.

منابع

1. Akbarian, A., H. Kermanshahi and A. Gilani. 2012. Influence of turmeric rhizome and black pepper on blood constituents and performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 11(34): 8606-8611.
2. Ahmadi, F. 2010. Effect of turmeric (*Curcuma longa*) powder on performance, oxidative stress state and some of blood parameters in broiler fed on diets containing aflatoxin B1. *Global Veterinarian*, 5: 312-317.
3. AL-Sultan, S.I. 2003. The effect of *Curcuma longa* (Turmeric) on overall performance of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 2: 351-353.
4. Anand, P., A.B. Kunnumakkara, R.A. Newman and B.B. Aggarwal. 2007. Bioavailability of curcumin: Problems and promises. *Pharmaceutics*, 4: 807-818.
5. Anand, P., H.B. Nair, B. Sung, A.B. Kunnumakkara, V. R. Yadav, R.R. Tekmal and B. B. Aggarwal. 2010. Design of curcumin-loaded PLGA nanoparticles formulation with enhanced cellular uptake, and increased bioactivity in vitro and superior bioavailability in vivo. *Biochemistry Pharmacology*, 79: 330-338.
6. Arpasova, H., M. Halaj and P. Halaj. 2010. Egg shell quality and calcium utilization in feed of hens in repeated laying cycles. *Czech Journal of Animal Science*, 55: 66-74.
7. Asmundson, V.S. and G.A. Baker. 1940. Percentage shell as a function of shell thickness, egg volume, and egg shape. *Poultry Science*, 19(4): 227-232.
8. Babu, P.S. and K. Srinivasan. 1997. Hypolipidemic action of curcumin the activity principle of turmeric in streptozotocin induced diabetic rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 166: 169-175.
9. Bergmeyer, H.U., M. Grassl and H.E. Walter. 1985. Hexokinase, In *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd edn, vol II, Bergmeyer HU, Bergmeyer J, Grassl M (eds). VCH Verlagsgesellschaft: Weinheim, 222-223.
10. Bollengier-Lee, S., M.A. Mitchell, D.B. Utomo, P. Williams and C.C. Whitehead. 1998. Influence of high dietary vitamin E supplementation on egg production and plasma characteristics in hens subjected to heat stress. *British Poultry Science*, 39: 106-112.
11. Cheema, M.A., M.A. Qureshi and G.B. Havenstein. 2003. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 randombred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. *Poultry Science*, 82: 1519-1529.
12. El-Agamy, D.S. 2010. Comparative effects of curcumin and resveratrol on aflatoxin B1-induced liver injury in rats. *Archives of Toxicology*, 84: 389-396.
13. Emadi, M. and H. Kermanshahi. 2007. Effect of turmeric rhizome powder on immunity responses of broiler chickens. *Journal Neterinary Advance*, 6: 833-836.
14. Emadi, M. and H. Kermanshahi. 2007. Effect of turmeric rhizome powder on the activity of some blood enzymes in broiler chickens. *International Journal Poultry Science*, 6: 48-51.
15. Emadi, M., H. Kermanshahi and E. Maroufyan. 2007. Effect of varying levels of turmeric rhizome powder on some blood parameters of broiler chickens fed corn-soybean meal based diets. *International Journal Poultry Science*, 6: 345-348.
16. Fernandez, A., M.T. Verde, M. Gascon, J.J. Ramos, J. Gomez, D.F. Luco and G. Chavez. 1994. Variation of clinical biochemical parameters of laying hens and broiler chicks fed aflatoxin containing feed. *Avian Pathology*, 23: 37-47.
17. Fallah, R. and E. Mirzaei. 2016. Effect of Dietary Inclusion of Turmeric and Thyme powders on performance, blood parameters and immune system of broiler chickens. *Livestock Science*, 7: 180-186.
18. Govindarajan, V.S. 1980. Turmeric-chemistry, technology and quality. *Critical Rev Food Science Nutrition*, 12: 199-301.
19. Garcea, G., D.J. Jones, R. Singh, A.R. Dennison, P.B. Farmer, R.A. Sharma, W.P. Steward, A.J. Gescher and D.P. Berry. 2004. Detection of curcumin and its metabolites in hepatic tissue and portal blood of patients following oral administration. *British Journal of Cancer*, 90(5): 1011-1015.
20. Haghirsadat, F., G.T. Amoabediny, A. Mohammadnejad and B. Zandieh-Doulabi. 2016. A novel approach on drug delivery: Investigation of new nano-formulation of liposomal doxorubicin and biological evaluation of entrapped doxorubicin on various osteosarcomas cell lines. *Cell Journal*, 19: 55-65.
21. Hosseini-Vashan, S.J., A. Golian, A. Yaghobfar, A. Zarban, N. Afzali and P. Esmaeilinasab. Antioxidant status, immune system, blood metabolites and carcass characteristic of broiler chickens fed turmeric rhizome powder under heat stress. *African journal biotechnology*, 11(94): 11161-11174.
22. Hoehle, S.I., E. Pfeiffer, A.M. Solyom and M. Metzler. 2006. Metabolism of curcuminoids in tissue slices and subcellular fractions from rat liver. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(3): 756-64.
23. Hy-Line International. 2015. Hy-Line W-36 Commercial layer Management Guide. Hy-Line International, Des Moines, IA.
24. Jayaprakasha, G.K., L. Rao and K. Sakariah. 2006. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chemistry*, 98: 720-724.
25. Jayaprakasha, G.K., L. Rao and K. Sakariah. 2005. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science and Technology*, 16: 533-548.
26. Jagetia, G.C. and B.B. Aggarwal. 2007. "Spicing up" of the immune system by curcumin. *Journal of Clinical Immunology*, 27: 19-35.

27. Jang, E.M., M.S. Choi, U.J. Jung, M.J. Kim, H.J. Kim, S.M. Jeon, S.K. Shin, C.N. Seong and M.K. Lee. 2008. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. *Metabolism*, 57: 1576-1583.
28. Keshavarz, K. 1976. The influence of turmeric and curcumin on cholesterol concentration of eggs and tissues. *Poultry Science*, 55: 1077-1083.
29. Kermanshahi, H. and A. Riasi. 2006. Effect of turmeric rhizome powder (*Curcuma longa*) and soluble NSP degrading enzyme on some blood parameters of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 5: 494-498.
30. Kumari, P., M.K. Gupta, R. RanJan, K.K. Singh and R. Yadava. 2001. *Curcuma longa* as feed additive in broiler birds and its patho-physiological effects. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45: 272-277.
31. Laganá, C., C.C. Pizzolante, P. Turco, J.E. Moraes and E. Saldanha. 2012. Influence of the natural dyes bixin and curcumin in the shelf life of eggs from laying hens in the second production cycle. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 34: 155-159.
32. Lopez-Lazaro, M. 2008. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: Considerations for its clinical development as a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent. *Nutrition Food Research*, 52: 103-127.
33. Maheshwari, R.K., A.K. Singh, J. Gaddipati and R.C. Srimal. 2006. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sciences*, 78: 2081-2087.
34. Marczylo, T.H., R.D. Verschoyle, D.N. Cooke, P. Morazzoni, W.P. Steward and A.J. Gescher. 2007. Comparison of systemic availability of curcumin with that of curcumin formulated with phosphatidylcholine. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*, 60: 171-7.
35. Mézes, M. and A. Hidas. 1992. Is there lipid peroxidation induced malondialdehyde production during egg shell formation. *Acta Veterinaria Hungarica*, 40: 297-301.
36. Moorthy, M., S. Saravan, S.R. Mehala, K.V. Ravikumar and S.C. Edwin. 2009. Performance of single comb white leghorn layers fed with aloe vera, curcuma longa (turmeric) and probiotic. *International Journal of Poultry Science*, 8: 775-778.
37. Nasri, H., N. Sahinfard, S. Rafieian, M. Shirzad and M. Rafieian-Kopaei. 2014. Turmeric: A spice with multifunctional medicinal properties. *Journal of Herbmec Pharmacology*, 3: 5-8.
38. Nelson, N. A., N. Lakshmanan and S.J. Lamont. 1995. Sheep red blood cell and *Brucella abortus* antibody responses in chickens selected for multitrait immunocompetence. *Poultry Science*, 74: 1603-1609.
39. Park, S.S., J.M. Kim, E.J. Kim, H.S. Kim and C.W. Kang. 2012. Effects of dietary turmeric powder on laying performance and egg qualities in laying hens. *Korean Journal of Poultry Science*, 39: 27-32.
40. Pilevar, M., J. Arshami, A. Golian and M.R. Basami. 2011. Effects of dietary n-6: n-3 ratio on immune and reproductive systems of pullet chicks. *Poultry Science*, 90: 1758-1766.
41. Radwan, N., R.A. Hassan, E.M. Qota and H.M. Fayek. 2008. Effect of natural antioxidant on oxidative stability of eggs and productive and reproductive performance of laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 7: 134-150.
42. Rahardja, D.P., M.R. Hakim and V.S. Lestari. 2015. Egg production performance of old laying hen fed dietary turmeric powder. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2: 264.
43. Riasi, A., H. Kermanshahi and A.H. Mahdavi. 2012. Production performance, egg quality and some serum metabolites of older commercial laying hens fed different levels of turmeric rhizome (*Curcuma longa*) powder. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 2141-2145.
44. Riasi, A., H. Kermanshahi and M.H. Fathi. 2008. Effect of Turmeric rhizome powder (*Curcuma longa*) on performance, egg quality and some blood serum parameters of laying hens. *Proceeding 1st Mediterranean Summit of World Poultry Science Association, Greece*.
45. Richmond, W. 1973. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum. *Clinical Chemistry*, 19: 1350-1356.
46. Samarasinghe, K., C. Wenk, K. Silva and J. Gunasekera. 2003. Turmeric (*Curcuma longa*) root powder and mannanoligosaccharides as alternatives to antibiotics in broiler chicken diets. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 16(10): 1495-1500.
47. SAS Institute. 2005. *SAS Users guide: Statistics. Version 9.12*. SAS Institute Inc., Cary, NC: 126-178.
48. Saraswati, T.R., W. Manalu, D.R. Ekastuti and N. Kusumorini. 2013. The role of turmeric powder in lipid metabolism and its effect on quality of the first quail's egg. *Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture*, 38(2): 123-130.
49. Sawale, G.K., K.S. Maini and D.S. Rekhe. 2009. Experimental mycotoxicosis in layer induced by ochratoxin and its amelioration with herbomineral toxin binder 'toxiroak'. *International Journal of Poultry Science*, 8: 798-803.
50. Sharma, R.A., A.J. Gescher and W.P. Steward. 2005. Curcumin: The story so far. *European Journal Cancer*, 41: 1955-1968.
51. Suresh, D. and K. Srinivasan. 2007. Studies on the in vitro absorption of spice principles-Curcumin, capsaicin and piperine in rat intestines. *Food Chemistry Toxicology*, 45(8): 1437-1442.
52. Valizadeh, M. and M. Moghaddam. 1984. *Experimental designs in agricultur*. Pistaz Elem Press, 1: 90-105.

Effect of Different Levels of Nanoparticle Curcumin on Egg Quality, Blood Parameters, Immune Response and Digestibility in Laying Hens

Reza Daliri¹, Hasan Kermanshahi², Abolghasem Gholiyan³, Mohmod Reza Jafari⁴ and Jalil Tavakol Afshari⁴

1 and 3- PhD Student in Poultry Nutrition and Professor, at Ferdowsi University of Mashhad
2- Professor at Ferdowsi University of Mashhad, (Corresponding author: Kermansh@.um.ac.ir)
4- Professor Medical Science University of Mashhad

Received: March 10, 2018

Accepted: November 3, 2018

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of different levels of dietary nanoparticulate curcumin on egg quality, serum biochemical, immune response and digestibility of laying hens. A total of 160 laying hens (Hy-line w-36) at 60 weeks of age, were used in a completely randomized design, with four treatments and four replicates and 10 hens each. Dietary treatments were a basal diet without nano curcumin (control) and diets containing 400, 800 and 1200 mg nanomicelles curcumin per kg of diet. Egg quality and quantity variables were measured bi-weekly. The serum biochemical parameters were measured in the middle and at the end of experiment. In sixth week of trial, SRBC was injected to breast muscle and then serum immunological factors were measured at seven and eight of weeks. Addition of nano curcumin had no effect on shell thickness, but in the final weeks of experiments nano curcumin showed significant effect on yolk color. It was revealed that ALT and AST concentration were significantly affected ($P < 0.05$) by the nano curcumin dosages. At the end of experiment, cholesterol and LDL concentrations and HDL: LDL ratio was affected by consuming levels ($P < 0.05$). 400 mg of nano curcumin showed the best immune response compared to control group. The highest amount of absorption was revealed in 800 and 1200 mg nanoparticles. Low levels of nano curcumin (400 mg) showed the positive and consistent effects on serum biochemical and immunological parameters, Curcumin digestibility and also yolk color.

Keywords: Blood parameters, Immunity, Laying hens, Nanoparticle Curcumin