



## اثر سطوح افزایشی ساپونین بر تولید گاز در شرایط برون تنی

محمد هادی اعظمی<sup>۱</sup>، عبدالمنصور طهماسبی<sup>۲</sup>، عباس‌غلی ناصریان<sup>۲</sup>، رضا ولی زاده<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد تغذیه دام دانشگاه فردوسی مشهد

۲- اعضاء هیئت علمی گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

M.H.Aazami@gmail.com

### چکیده

این مطالعه به منظور وارسی پیش فرض اثر گذاری ساپونین بر کتیک تخمیر، قابلیت هضم ماده آلی و تولید گاز در شرایط برون تنی طراحی شد. بدین منظور سطوح ۰، ۷۲ و ۱۰۸ میکرولیتر محلول ساپونین به شیشه های حاوی ۵۰۰ میلی گرم مواد خوراکی و ۳۰ میلی لیتر مایع شکمبه مخلوط شده با بزاق مصنوعی به نسبت ۱:۲، اضافه شد و تولید گاز از ۲ تا ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون اندازه گیری شد (آزمایش سه بار تکرار شد و در هر آزمایش ۶ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد). سطوح افزایشی ساپونین موجب تغییر معنی داری در روند تولید گاز و بخش کند تخمیر (b) نگردید اما ثابت نرخ تولید گاز (c) ارزی قابل متابولیسم (ME) قابلیت هضم ماده آلی (OMD) و اسید چرب زنجیر کوتاه (SCFA) به طور معنی داری در شیشه های حاوی ساپونین کمتر بود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که ساپونین موجود در خوراکها همبستگی منفی با ثابت نرخ تولید گاز (c)، ارزی قابل متابولیسم (ME)، قابلیت هضم ماده آلی (OMD) و اسید چرب زنجیر کوتاه (SCFA) دارد ازینرو احتمالاً ساپونین می تواند در شرایط درون زادی نیز موجب کاهش عملکرد حیوانات نشخوارکننده گردد.

**واژه های کلیدی:** ساپونین-تولید گاز-ثابت نرخ تولید گاز-بخش کند تخمیر

### مقدمه

بیشینه بهره‌وری از حیوانات در صورتی قابل دسترس است که بازدهی استفاده از خوراک جهت رشد، تولید و تولید مثل در حد مطلوبی باشد. طیف وسیعی از خوراکها با منشا متفاوت در تغذیه حیوانات بکار بردہ می شود. ارزش غذایی خوراکها تحت تاثیر چندین فاکتور قرار می گیرد که می توانند بازدهی استفاده از خوراک را جهت تامین احتیاجات حیوان، تحت تاثیر قرار دهند. بنابراین حضور مواد ضد تغذیه در خوراک های حیوانی، استفاده بهینه از خوراک، ضریب تبدیل و توان تولید مثلی حیوان را می کاهد. یونجه و سویا که از اقلام اصلی خوراک های دام و طیورند، غنی از ساپونین هستند. علاوه بر آن به علت کمبود خوراک دام در کشورهای در حال توسعه دامپروران مجبور به استفاده از خوراک های غیر رایج در تغذیه دام اند که معمولاً غنی از تانن و ساپونین هستند. ساپونین یک گلاکوزید با وزن ملکولی بالا است که دارای بخش آگلیکونی استروئیدی و یا ترپنئیدی است (۴). با توجه به قابلیت هضم کم ساپونین، این گلاکوزید درون دستگاه گوارش و به ویژه شکمبه باقی می ماند و با تغییر میکرووارگانیسم ها و اکوسیستم شکمبه عملکرد نشخوارکننده گان را تحت تاثیر قرار می دهد. هدف از اجرای این آزمایش وارسی اثر ساپونین بر کتیک تخمیر، قابلیت هضم ماده آلی و تولید گاز در شرایط برون تنی بود.





## مواد و روش‌ها

روش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی مطابق با روش ارائه شده توسط منک و استینگاس (۱۹۸۸) انجام گرفت. مایع شکمیه قبل از خوراک صحبتگاهی از ۳ راس گوسفند نر بلوچی (به وزن  $40 \pm 2$  کیلوگرم) که دارای فیستولای شکمبهای بودند گرفته شد. جهت آماده سازی محلول ساپونین به ۱ میلی لیتر آب مقطر ۵ میلی گرم ساپونین اضافه شد و در شیشه‌های با سطح بالای ساپونین  $10\%$  میکرولیتر از محلول ساپونین ریخته شد و در شیشه‌های با سطح پایین ساپونین  $72$  میکرولیتر از محلول ساپونین ریخته شد. نمونه‌های خوراک به وزن  $500$  میلی گرم (با ترکیب  $450$  g/kg DM  $450$  g/kg DM  $140$  g/kg DM  $140$  g/kg DM  $250$  g/kg DM) داری شد و بعد از پلمپ کردن در شیشه‌ها در بنماری  $39$  درجه انکوباسیون شد.  $6$  شیشه مواد خوراکی به همراه محلول‌های آزمایش (بدون ساپونین)،  $6$  شیشه مواد خوراکی به همراه سطح پایین ساپونین ( $72$  میکرولیتر) و  $6$  شیشه مواد خوراکی به همراه سطح بالای ساپونین ( $108$  میکرولیتر) در بنماری قرار گرفت. در زمان‌های  $2, 4, 8, 12, 24, 36, 48, 72$  و  $96$  ساعت انکوباسیون میزان فشار گاز با استفاده از روش تکنیک فشار گاز ( $7$ ) اندازه‌گیری شد (آزمون تولید گاز سه مرتبه تکرار شد). برای تولید مولفه‌های تولید گاز از معادله مکدونالد ( $1979$ ) استفاده گردید. بر این اساس به منظور تعیین فراسنجه‌های تولید گاز از معادله  $P = b - e^{at}$  استفاده شد. در این معادله  $b$  گاز تولیدی از بخش تخمیر پذیر،  $c$  ثابت نرخ تولید گاز در ساعت،  $t$  زمان انکوباسیون بر حسب ساعت و  $P$  میزان گاز تولیدی در زمان مورد نظر می‌باشد. اطلاعات آزمایش به وسیله نرم افزار SAS 9.2 در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد.

تخمین انرژی قابل متابولیسم به وسیله معادله منک و استینگاس (۱۹۸۸) صورت گرفت.

$$ME (\text{MJ/kg DM}) = 2/20 + 0/136 GP + 0/057 CP$$

قابلیت هضم ماده آلی نیز با استفاده از معادله منک و استینگاس (۱۹۸۸) تخمین زده شد.

$$OMD (\%) = 14/88 + 0/889 GP + 0/45 CP + 0/0651 Ash$$

تخمین اسیدهای چرب کوتاه زنجیر بوسیله معادله ماکار (۲۰۰۵) صورت گرفت.

$$SCFA (\text{mmol}) = 0/0222G - 0/00425$$

محاسبه انرژی خالص شیروواری به وسیله معادله عباس و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد.

$$NEI (\text{MJ/kg DM}) = 0/115 \times GP + 0/0054 \times CP + 0/014 \times EE - 0/00054 \times Ash - 0/36$$

در این معادلات :

$$ME = \text{انرژی قابل متابولیسم} = GP / 200 \text{ mg} \quad CP = \text{پروتئین خام} \%$$

$$SCFA = \text{اسید چرب زنجیر کوتاه} \% \quad OMD = \text{قابلیت هضم ماده آلی} \% \quad Ash = \text{خاکستر} \%$$

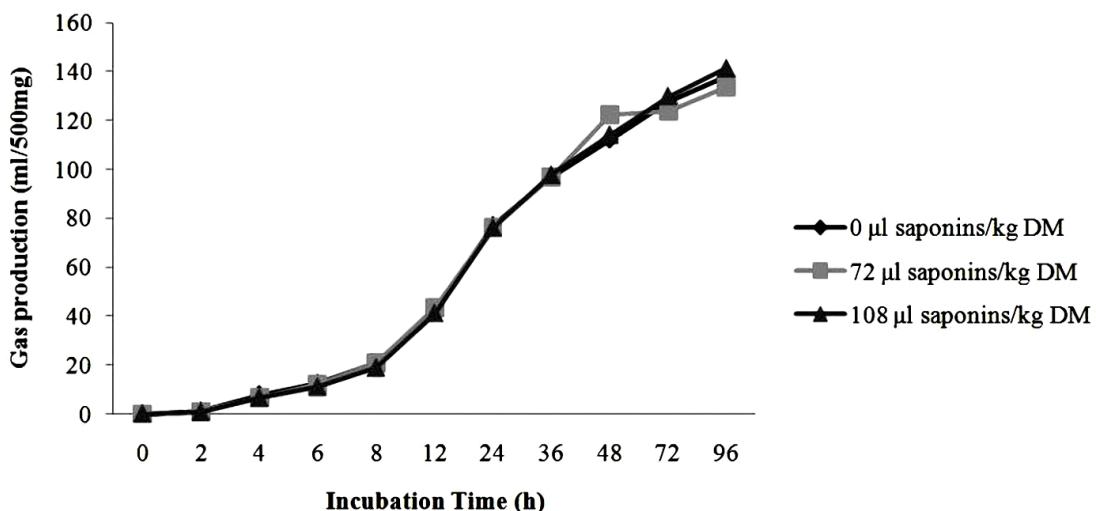


$EE = \frac{\text{نرژی خالص شیرواری}}{\text{عصاره اتر}}$

### نتایج و بحث

رونده تولید گاز بین سه گروه آزمایشی تفاوت معنی داری نشان نداد. نمودار ۱

نمودار ۱- روند تولید گاز تیمار های آزمایشی



سطح افزایشی ساپونین به طور معنی داری موجب کاهش ثابت نرخ تولید گاز (c) گروه  $0 \mu\text{l}/500 \text{ mg DM}$  نسبت به گروه شاهد و گروه  $108 \mu\text{l}/500 \text{ mg DM}$  نسبت به گروه  $72 \mu\text{l}/500 \text{ mg DM}$  ۷۲ گردید. این کاهش ثابت نرخ تولید گاز می تواند بواسطه کاهش در جمعیت باکتری های سلولایتیک و خاصیت ساپونین در باند شدن با پروتئین و پلی ساکاریدها و در نتیجه خارج کردن آنها از روند تخمیر باشد. برخی مطالعات(۸) کاهش مشابهی در روند تولید گاز و ثابت نرخ تولید گاز گزارش کردند اما برخی مطالعات (۵) نیز افزایش معنی دار روند تولید گاز و ثابت نرخ تولید گاز را در حضور سطوح افزایشی  $20$  و  $4$  میلی گرم ساپونین گزارش کردند. SCFA به عنوان شاخص تخمیرات شکمبهای در نظر گرفته می شود و الگوی تخمیرات و بازدهی استفاده از مواد مغذی هضم شده را نشان می دهد (۳). در این مطالعه OMD، SCFA و ME به طور معنی داری در گروههای حاوی ساپونین نسبت به گروه شاهد کمتر بود (جدول ۱).



جدول ۱- اثر سطوح افزایشی ساپونین بر تولید گاز و پارامترهای تخمینی تولید گاز

p-Value	SEM	DM)			(ml) B
		۱۰۸	۷۲	*	
۰/۰۷	۱۱/۸۲	۱۷۲/۲۸	۱۵۶/۷۸	۱۹۸/۷۳	
۰/۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۴۳ <sup>c</sup>	۰/۰۵۰ <sup>b</sup>	۰/۰۵۶ <sup>a</sup>	(ml/h) C
۰/۰۳	۰/۶۲	۹/۰۳ <sup>b</sup>	۹/۲۸ <sup>b</sup>	۱۱/۴۴ <sup>a</sup>	(MJ/kg DM) ME
۰/۰۳	۳/۵۱	۵۹/۰۴ <sup>b</sup>	۶۰/۵۱ <sup>b</sup>	۷۲/۷۲ <sup>a</sup>	(%) OMD
۰/۰۳	۰/۰۹	۰/۹۳ <sup>b</sup>	۰/۹۶ <sup>b</sup>	۱/۲۷ <sup>a</sup>	SCFA

<sup>a,b,c</sup> Means within a row with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ). SEM, standard error of the mean;

سانتوسو و همکاران (۶) نیز کاهش خطی در کل SCFA در حضور ساپونین *B. petersianum Klotzsch* را گزارش کردند. از نتایج این مطالعه می‌توان دریافت که حضور ساپونین می‌تواند موجب مهار فعالیت میکروبی و فرآیندهای تخمیری در شرایط بروون تنی شود. ازین‌رو می‌توان در شرایط درون تنی نیز انتظار کاهش عملکرد حیوان را در حضور ساپونین در اقلام خوراکی، داشت.

#### منابع

۱. اعظمی، م.م. ۱۳۹۰. اثر ساپونین بر تخمیر شکمبه و عملکرد نشخوارکنندگان کوچک. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه فردوسی مشهد.
2. Aazami M. H, A.M. Tahmasbi, M. H. Ghaffari, A.A. Naserian, R. Valizadeh 2013. Effects of Saponins on Rumen Fermentation, Nutrients Digestibility, Performance, and Plasma Metabolites in Sheep and Goat Kids, Annual Review & Research in Biology. 3(4): 596-607.
3. France, J., Dijkstra, J., 2005. Volatile fatty acid production. In: J. Dijkstra, J.M. Forbes, J. France (eds), Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism, (CABI Publishing, UK), 157–176
4. Hostettmann, K. and Marston, A. 1995. Saponins. Cambridge: Cambridge University Press.
5. Hu, W.L., Liu, J.X., Ye, J.A., Wu, Y.M., Guo, Y.Q., 2005a. Effect of tea saponin on rumen fermentation in vitro, Animal Feed Science and Technology, 120, 333–339
6. Santoso, B., Kilmaskossu, A., Sambodoc, P., 2007. Effects of saponin from *Biophytum petersianum Klotzsch* on ruminal fermentation, microbial protein synthesis and nitrogen utilization in goats, Animal Feed Science and Technology, 137, 58–68
7. Theodorou, M. K., B. A. Williams, M. S. Dhanoa, A. B. McAllan and J. France, 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 48: 185–197.
8. Wang, Y., McAllister, T.A., Yanke, L.J. and Cheeke, P.R. 2000. Effect of steroid saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. J Applied Microbiol. 88: 887-896.



**Effect of incremental levels of saponins on in vitro gas production**

M.H. Aazami, A. Tahmasbi, A.A. Naseryan, R. Valizadeh

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

**Abstract**

This study was designed to test the hypothesis that *in vitro* ruminal gas production, fermentation kinetics and organic matter digestibility are influenced by different levels of saponins. The saponins were added at levels of 0, 72 and 108 µl saponins/500 mg DM in rumen fluid and gas production was recorded from 2 to 96 h of incubation (Experiment was repeated three times and 6 replicates for each treatment in each experiment were considered). In current study, saponins supplementation significantly decreased the gas production rate ( $r^2$ ); however, no effect was evident on the total gas production. the SCFA, OMD and ME significantly decreased when saponins was added in incubation. From the results, it may be concluded that saponins supplementation significantly inhibited microbial activity and overall fermentation process.

**Keywords:** saponin-gas production- gas production rate- slowly fermentable component