

ผลของซาโปนินต่อจำนวนโปรโตซัวและกระบวนการหมัก ในกระเพาะหมักสัตว์เคี้ยวเอื้อง

Effects of Saponins on Protozoa and Rumen Fermentation in Ruminants

ภัทรกร ทศพงษ์ และ ปราโมทย์ แพงคำ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี นครราชสีมา 30000

1. บทนำ

กระบวนการหมักในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้น ได้ผลผลิตสุดท้ายบางชนิดซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์ เช่น แก๊สมีเทน แอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งถือว่าเป็นของเสียและอาจเป็นโทษต่อตัวสัตว์ถ้ากำจัดทิ้งไม่ทัน นอกจากนี้ยังเป็นการสูญเสียพลังงานจากอาหารสัตว์ไปประมาณ 2 -15 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการหาวิธีการที่จะลดการผลิตและลดการปลดปล่อยแก๊สมีเทนออกสู่บรรยากาศ ก็จะเป็นประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อมและต่อตัวสัตว์ด้วย แต่เนื่องจากการผลิตมีเทนจะเกี่ยวข้องกับจำนวนโปรโตซัวในกระเพาะหมัก เพราะว่าแก๊สมีเทนที่ถูกผลิตขึ้นในกระเพาะหมักประมาณ 9 - 25 เปอร์เซ็นต์ จะผลิตโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับโปรโตซัว [1] ดังนั้นถ้าจำนวนโปรโตซัวลดลง แบคทีเรียที่ผลิตมีเทนก็จะลดลง ด้วยการยับยั้งโปรโตซัวมีหลายวิธี และวิธีหนึ่งที่น่าสนใจก็คือการเสริมสารซาโปนิน ซึ่งพบได้ในพืชหลายชนิด มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านโปรโตซัว (anti-protozoa) เนื่องจากว่าในกระเพาะหมักโปรโตซัวจะเป็นผู้ล่า (predator) ซึ่งโปรโตซัวจะล่าแบคทีเรียในกระเพาะหมัก ดังนั้นการยับยั้งจำนวนโปรโตซัวในกระเพาะหมักจึงมีประโยชน์หลายอย่าง เช่น ลดการผลิตแก๊สมีเทน เพิ่มการผลิตโปรพิโอเนท เพิ่มการใช้ประโยชน์ได้ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ เพิ่มการไหลผ่านของจุลินทรีย์โปรตีนเข้าสู่ลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนหลักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง เป็นการส่งเสริมประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ด้วยเหตุนี้ซาโปนิน

จึงน่าจะนำมาเป็นสารต้านโปรโตซัวได้ แต่ในปัจจุบันการศึกษาในตัวสัตว์ยังมีข้อมูลอยู่อย่างจำกัด อย่างไรก็ตามซาโปนินน่าจะเป็นทางเลือกในการเพิ่มผลผลิตสัตว์ได้อีกทางหนึ่ง และเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์เคี้ยวเอื้องต่อไป

2. พืชที่มีสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบ

ซาโปนิน (saponin) เป็นสารประกอบตามธรรมชาติในพืช ซึ่งถือว่าเป็น secondary compounds พบในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ราก หัว ผล ใบ เปลือกไม้ เมล็ด และพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น ในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด เช่น ถั่วเหลือง ถั่วลิสง อัลฟาฟ่า ข้าวโอ๊ต สม ห้วบี่ท ชา กระเทียม ทานตะวัน หญ้าตระกูลถั่วชนิดนี้ หญ้าตระกูลบราซิลเรีย และในพืชอื่นๆ เช่น พืชในตระกูล Sapindaceae เช่น *Sapindus rarak*, *S. mukorossi* (soapnut, 11.5% saponin), *S. saponaria* (soapberry, 12%) *S. emarginatus* เป็นต้น และพืชอื่นๆ เช่น *Yucca schidigera* (4.4%), *Enterlobium cyclocarpum* (1.9%), *Sesbania sesban*, *Quillaja saponaria* (soapbark, 10%), *Acacia auriculoformis* [2 และ 3] เป็นต้น โดยพืชจะสร้างสารซาโปนินขึ้นในบริเวณที่มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายเพื่อป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคต่างๆ เช่น แบคทีเรีย ไวรัส เชื้อรา แมลงศัตรูพืช สัตว์จำพวกหอย และสัตว์กินพืช [4] เป็นต้น การสร้างสารนี้ของพืชขึ้นอยู่กับ

กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิด และอายุของพืช สภาพแวดล้อมและ การเกษตรกรรม

3. คุณลักษณะของซาโปนิน (saponin)

ซาโปนินเป็นสารพวก glycosides compounds ประกอบด้วย sapogenin (aglycone) คือ steroid (C27) หรือ triterpenoid (C30) จับกับน้ำตาล สารซาโปนินจะมีองค์ประกอบโครงสร้างเป็นพวก sapogenin เป็นแกนแล้วต่อด้วยพันธะโคเวเลนต์กับน้ำตาล (oligosaccharide moiety) โดยที่น้ำตาลปกติจะประกอบด้วย กลูโคส กาแลคโตส กรดกลูโครนิก ไซโลส รามโนส (rhamnose) หรือ เมทิลเพนโตส เป็นต้น ซึ่งโดยปกติ glycosides จับกันอยู่ในรูป hydrophobic aglycone (sapogenin) และจะมีคาร์บอนอะตอมที่มีพันธะโคเวเลนต์ต่อกับโมเลกุลของน้ำตาล (oligosaccharide) หนึ่งโมเลกุลหรือมากกว่าก็ได้ หรือหนึ่งจุดหรือมากกว่าก็ได้ และโดยทั่วไปจะจับที่ตำแหน่ง C₃ เรียกว่า monodesmoside saponins แต่ถ้าหากว่ามีน้ำตาลจับเพิ่มที่ตำแหน่ง C₂₂ หรือ C₂₈ ก็จะเรียกว่า bidesmoside saponins โครงสร้างของซาโปนินจะมีความสลับซับซ้อนเกิดจากการเปลี่ยนแปลงได้ของโครงสร้างของ sapogenin และขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาล (side chain) เช่น การเรียงตัว จำนวนที่เข้าจับ และตำแหน่งที่เข้าจับบน sapogenin [5] เช่น triterpenoid saponin จะมี 2 ลักษณะคือเป็นกลางเมื่อน้ำตาลธรรมดาจับที่ sapogenin และเป็นกรดเมื่อน้ำตาลที่มาจับเป็น กรดยูโรนิก หรือ หมู่ คาร์บอกซิล หรือ เปลือกของผลในพืชตระกูล Sapindaceae จะมี sapogenin เป็น hederagenin แต่จะมีน้ำตาลที่มาจับต่างกัน เช่น ผลของ soapberry จะมีกลูโคสต่อกับ hederagenin และมี รามโนสและ อะราบินอสต่อกับกลูโคส ส่วนในผลของ *Sapindus rarak* จะมีอะราบินอสจับกับ hederagenin และมีรามโนสและไซโลสต่อกับอะราบินอส เป็นต้น โดยพบว่า steroid saponin จะมีโครงสร้างที่แตกต่างกันมากกว่า 28 ชนิด ส่วน triterpenoid saponin มีโครงสร้างต่างกันมากกว่า 20 ชนิด สารซาโปนินสามารถทำให้เกิดฟองได้ และได้มีการนำมาผสมในเครื่องดื่ม และ

เครื่องสำอางค์เพื่อเพิ่มการผสมเป็นเนื้อเดียว ใช้เป็นสมุนไพร และชาวบ้านสมัยก่อนใช้ในการทำความสะอาดร่างกาย เช่น สระผม และซักเสื้อผ้า เป็นต้น [3] นอกจากนี้ สารซาโปนินยังมีความสำคัญในด้านการเป็นสารโภชนะทั้งในมนุษย์และสัตว์ ทั้งนี้พบว่าซาโปนินมีคุณสมบัติที่มีผลต่อกระทบทั้งทางบวกและทางลบต่อมนุษย์และสัตว์ เช่น การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การทำให้ไขมันในเส้นเลือดต่ำ การเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) การทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มการซึมผ่านของสาร (permeability) ได้มากขึ้น ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก ส่วนในสัตว์พบว่า มีผลต่อการกินได้ การเจริญเติบโต ระบบสืบพันธุ์ และสามารถเป็นสารต้านโปรโตซัว ช่วยในการย่อยโปรตีน และการดูดซึมวิตามินและแร่ธาตุในทางเดินอาหารดีขึ้น [5] เป็นต้น

4. กลไกความเป็นพิษของซาโปนินต่อเยื่อหุ้มเซลล์

ซาโปนินจะถูกสลาย (hydrolysis) โดยจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักในสัตว์เคี้ยวเอื้อง และจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ (colon) หรือซีกัม (caecum) ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โดยซาโปนินที่เป็น steroid จะถูกจุลินทรีย์สลายตัวได้เป็น sapogenin ซึ่งซาโปนินมีผลทำให้เม็ดเลือดแดงแตก และส่วนที่ออกฤทธิ์คือ sapogenin มากกว่าส่วนที่เป็นน้ำตาล [6] ทั้งนี้ซาโปนินจะมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โดยทำให้คุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์เสียสภาพไปหรือทำงานผิดปกติ อาจเป็นเพราะว่าโครงสร้างของซาโปนินเป็นไขมัน ซึ่งคล้ายกับโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ (membrane) ของพลาสมาเยื่อหุ้มเซลล์และโปรโตซัวก็เช่นเดียวกันมีเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นไขมัน 2 ชั้น (phospholipids bilayer) โดยที่ซาโปนินอาจจะเข้าทำปฏิกิริยาตรงโพลารเฮด (polar heads) ของฟอสโฟลิพิดของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยส่วน OH ของคลอเรสเตอรอลกับส่วน OH ที่ตำแหน่ง C₃ หรือ C₂₈ ของซาโปนิน จะรวมกันในลักษณะของไมเซลล์ (micelle) ยิ่งไปกว่านั้นส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ของ sapogenin จะสอดแทรกเข้าไปที่ส่วน hydrophobic ภายใน bilayer ทั้ง 2 ลักษณะนี้ อาจจะ

ส่งเสริมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อมของไขมันรอบๆ โพรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงที่มีผลต่อคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ช่องแลกเปลี่ยนไอออน (ion channels) ตัวขนส่ง (transporters) ตัวรับ (receptors) เป็นต้น ทำให้การทำหน้าที่ต่างๆ ของเยื่อหุ้มเซลล์จะผิดปกติไปได้ จากลักษณะดังกล่าว ซาโปนินจึงทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีความสามารถซึมผ่านของสารหรือน้ำได้มากขึ้น (permeability) เป็นผลให้เซลล์โปรโตซัวถูกทำลายได้ อย่างไรก็ตามการเกิดปฏิกิริยาระหว่างซาโปนินกับลิพิดของเยื่อหุ้มเซลล์ ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น องค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมาย เช่นการมีคลอเลสเทอรอลเป็นส่วนประกอบน้อย จะมีความต้านทานสูงกว่าเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีคลอเลสเทอรอลสูง และชนิดน้ำตาลการเรียงตัวและตำแหน่งของน้ำตาลที่จับ ชนิดของพันธะที่ต่อกับ aglycone และธรรมชาติของ aglycone โดยพบว่าน้ำตาลรามโนสจับกับ aglycone จะมีความรุนแรงกว่ากลูโคส และพันธะ (1,4) หรือ β -linkage จะมีความรุนแรงกว่าพันธะ (1,6) หรือ α -linkage [3] และน้ำตาลสายเดี่ยว (monodesmoside saponins) จะมีความรุนแรงสูงกว่า bidesmoside saponins และน้ำตาลสายยาวก็แสดงความรุนแรงมากกว่าด้วย [5]

5. ผลของซาโปนินต่อจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

ซาโปนินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านโปรโตซัว (anti-protozoa) ซึ่งโปรโตซัวในกระเพาะหมักมี 2 กลุ่มคือ Holotrichs และ Entodiniomorphs ชนิดที่พบมากในกระเพาะหมักคือ Entodiniomorphs ประมาณ 93 เปอร์เซ็นต์ [7] โดยกลุ่ม Holotrichs จะใช้คาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ ส่วนกลุ่ม Entodiniomorphs จะใช้แป้งจากเมล็ดธัญพืช และทำให้แป้งแตกตัว การใช้สารซาโปนินที่สกัดจากเมล็ดชา (Tea saponin ; 60% triterpenoid saponins) ศึกษาแบบ *in vitro* ในอัตรา 0.2- 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าซาโปนินสามารถทำให้จำนวนโปรโตซัวลดลง (ตารางที่ 1) และทำให้เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์โปรตีน [8, 9 และ 10] และการใช้ซาโปนินสกัด

จากผลของ soapnut ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน [11] โดยผลนี้คล้ายกับที่รายงานไว้โดย Wang et al. [6] และ Wina et al. [4] ที่ใช้ yucca extract อัตรา 0.5 - 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ Lila et al. [12] ใช้สาร sarsaponin จาก yucca extract ในอัตรา 1.2 - 3.2 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ Klita et al. [13] พบว่าซาโปนินสกัดจากรากถั่วอัลฟาฟา (27.8% saponins) เสริมในอาหารและอัตรา 4 เปอร์เซ็นต์ของการกินได้วัตถุแห้ง (44.7 กรัมซาโปนินต่อตัวต่อวัน) มีผลทำให้ลดจำนวนโปรโตซัว 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับที่รายงานโดย Hess et al. [1] ที่ศึกษาในพืชที่มีซาโปนินสูง (soapberry) แบบ *in vitro* อัตรา 100 มิลลิกรัมต่อกรัมอาหาร ทำให้ลดจำนวนโปรโตซัว 54 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรีย และแบคทีเรียที่ผลิตแก๊สมีเทน ในขณะที่การใช้ *Yucca schidigera* (Yucca) บดเสริมในอัตรา 20 และ 60 กรัมต่อวัน ในการเลี้ยงโคสาว พบว่าสามารถลดจำนวนโปรโตซัวได้ [14] ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับที่เสริม *E. cyclocarpum* ในอัตรา 0.5 และ 10 กรัมต่อวัน จะลดจำนวนโปรโตซัวได้ 20-90 เปอร์เซ็นต์ และจากการใช้ *E. cyclocarpum* เลี้ยงและ ทำให้ลดจำนวนโปรโตซัวลง 49-79 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงวันที่ 4-11 ของการเสริม หลังจากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย จนเป็นปกติในวันที่ 20 [7] สอดคล้องกับรายงานของ Teferedegne et al. [15] ที่เสริม *S. sesban* เลี้ยงและในอัตรา 200 กรัมต่อวัน ในขณะที่ศึกษาซาโปนินสกัดจาก Yucca ในแกะและโคใช้อัตรา 5 - 30 กรัมต่อตัวต่อวัน พบว่าไม่มีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์เปลี่ยนแปลง แต่จำนวนโปรโตซัวจะเพิ่มประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ในอัตรา 30 กรัมต่อตัวต่อวัน [2 และ 16] ให้ผลเช่นเดียวกับที่ศึกษาในดิน *E. cyclocarpum* และ *P. saman* ในอัตรา 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร [1] และจากการศึกษาโดย Abreu et al. [17] ที่เสริมผลของต้น soapberry ในอัตรา 8 กรัมต่อน้ำหนักแม่แทบอลิก (128 กรัมต่อตัวต่อวัน) ในแกะพันธุ์อัฟฟริกัน ก็พบว่าเพิ่มจำนวนโปรโตซัว โดยเฉพาะกลุ่ม Entodiniomorphs ส่วนกลุ่ม Holotrichs ไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามจากการใช้ sarsaponin

อัตรา 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (0.01 เปอร์เซ็นต์) ในอาหาร พบว่าไม่มีผลต่อจำนวนโปรโตซัวและแบคทีเรีย [18] ถึงแม้ว่าซาโปนินในอัตรา 0.5 - 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะไม่มีผลต่อจุลินทรีย์

กลุ่ม *Fibrobacter spp.* แต่การเสริมซาโปนินในปริมาณสูงจะมีผลต่อกลุ่ม *Fibrolitic* คือ *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens* และ *Chytridomycetes* [4]

ตารางที่ 1 ผลของซาโปนินและพืชที่มีซาโปนินเป็นองค์ประกอบต่อจำนวนจุลินทรีย์ในกระเพาะหมัก

Item	Control	Saponins	SEM	Source of saponins (unit)	References
Protozoa (10^5 ml^{-1}) ^a	0.61	0.51	0.008	Tea saponin (0.4 mg/ml)	Hu et al. (2005a)
Bacteria (mg/ml) ^a	0.71	0.84	0.024	Tea saponin (0.4 mg/ml)	
Protozoa (10^5 ml^{-1}) ^a	4.29	0.92	0.1	Tea saponin (8 mg/200mg)	Hu et al. (2005b)
Bacteria (mg/ml) ^a	1.50	2.61	0.111	Tea saponin (8 mg/200mg)	
Protozoa (10^3 ml^{-1}) ^a	1.48	0.44	0.019	Yucca extract (0.5 mg/ml)	Wang et al. (1998)
Bacteria (10^8 ml^{-1})	2.32	2.77	0.241	Yucca extract (0.5 mg/ml)	
Protozoa (10^5 ml^{-1}) ^a	1.23	0.86	0.22	Sarsaponin yucca (3.2 g/L)	Lila et al. (2003)
Protozoa (10^4 ml^{-1})	1.11	0.85	1.334	Yucca extract (100 mg/kg)	Sliwinski et al. (2002)
Bacteria (10^9 ml^{-1})	3.81	4.0	0.295	Yucca extract (100 mg/kg)	
Protozoa (10^5 ml^{-1}) ^a	1.65	0.19	0.12	Alfalfa root extract (4 %DMI)	Klita et al. (1996)
Protozoa (10^5 ml^{-1}) ^a	1.04	1.74	1.25	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	Abreu et al. (2004)
Microbial N (g/d) ^a	3.80	5.10	0.30	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	
Protozoa (10^3 ml^{-1}) ^a	6.30	2.90	0.65	Soapberry (100 mg/g)	Hess et al. (2003)
Bacteria (10^9 ml^{-1})	3.50	3.30	0.23	Soapberry (100 mg/g)	
Methanogens (10^8 ml^{-1})	2.20	2.10	0.52	Soapberry (100 mg/g)	

หมายเหตุ : ^a ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

6.ผลของซาโปนินต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก

สารซาโปนินมีผลต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก กล่าวคือ ทำให้เพิ่มโปรฟิโอะเนท ลอะซิเตท มีเทน และแอมโมเนีย [10] (ตารางที่ 2,3) จากการให้ สารซาโปนินที่สกัดด้วยเมทานอลจาก *S. rarak* ศึกษาแบบ *in vitro* ในอัตรา 0.25 - 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าทำให้กรดอะซิติกและบิวทิริกลดลงแต่เพิ่มการผลิตโปรฟิโอะเนท และแอมโมเนียก็ลดลงตามอัตราความเข้มข้นของซาโปนินที่เพิ่มขึ้น [4 และ 11] ให้ผลสอดคล้อง

กับรายงานของ Lila et al. [12] ที่ใช้ซาโปนินอัตรา 1.2-3.2 กรัมต่อลิตร ในขณะที่การเสริมผลของ soapberry ในอัตรา 8 กรัมของวัตถุแห้งต่อน้ำหนักเมแทบอลิก (128 กรัมต่อตัวต่อวัน) ในแกะพันธุ์ฟริกัน พบว่าเพิ่มการผลิตโปรฟิโอะเนท และ บิวทิเรท และลดอะซิเตท และสัดส่วนอะซิเตทต่อโปรฟิโอะเนท แต่แอมโมเนียไม่ต่างจากกลุ่มที่ไม่เสริม [17] ในขณะที่การใช้สารซาโปนินที่สกัดจากเมล็ดชา (Tea saponin) ในอัตรา 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ศึกษาแบบ *in vitro* พบว่า ซาโปนินทำให้ลดการผลิตแอมโมเนีย และแก๊สมีเทน 19.6 และ 26 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อการผลิตกรดไขมันระเหยง่าย

[3 และ 4] สอดคล้องกับที่รายงานไว้โดย Sliwinski et al. [18] ที่ใช้ yucca extract ในอัตรา 1-100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และจากการเสริม Yucca บดในอัตรา 60 กรัมต่อวัน ในโคขุนสาวก็พบว่าสามารถเพิ่มการผลิตโปรฟิโธเนท 17 เปอร์เซนต์ และลดสัดส่วนของอะซิเตทต่อโปรฟิโธเนท [14] ในขณะที่ Klita et al. [13] พบว่าการเสริมซาโปนินสกัดจากรากของถั่วอัลฟาฟา ในอัตรา 1 - 4 เปอร์เซนต์ การกินได้ (44 กรัมต่อวัน) ในแกะ พบว่า 2 วันแรกการผลิตอะซิเตทและโปรฟิโธเนทจะสูงในการเสริมซาโปนิน 4 เปอร์เซนต์ แต่จากการวัดวันที่ 14 วันไม่ต่างกัน แสดงว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักมีการปรับตัว [6] ผลนี้สอดคล้องกับที่รายงานโดย Teferedegne et al. [15] จากการเลี้ยงแกะด้วย *S. sesban* อัตรา 200 กรัมต่อวัน และการใช้ *E. cyclocarpum* เสริมในแกะก็ไม่เปลี่ยนแปลงรูปแบบการหมักในกระเพาะหมัก [1 และ 7] และการใช้สารสกัดจาก Yucca ในอัตรา 8 - 9 กรัมต่อตัวต่อวันในโค ก็ไม่มีผลต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก [16] นอกจากนี้การกำจัดโปรโตซัวในกระเพาะหมักจะมีผลต่อกระบวนการหมัก โดยพบว่าจะทำให้ลดการผลิตมีเทนเพิ่มการผลิตโปรฟิโธเนท และจำนวนแบคทีเรีย [1 และ 8] และการลดลงของจำนวนโปรโตซัวส่งผลให้ลดการผลิตมีเทนด้วยนั้น [9] อาจเป็นเพราะแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตมีเทนจะอาศัยอยู่ร่วมกับโปรโตซัว เมื่อจำนวนโปรโตซัวลดลงก็ทำให้จำนวนแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนลดลงด้วย

7. สรุปและวิจารณ์

จากการรวบรวมเอกสารพบว่าซาโปนินสามารถเป็นสารต้านโปรโตซัว (anti-protozoa) ด้วยเหตุนี้จึงเป็นการเพิ่มการใช้ได้ของอาหารพวกแป้งได้ดีขึ้น ส่งผลให้มีการผลิตโปรฟิโธเนทเพิ่มขึ้น ลดการผลิตอะซิเตท และบิวทิเรท และมีการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย และลดการผลิตแก๊สมีเทน เหตุผลเหล่านี้เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ การลดลงของอะซิเตท และบิวทิเรท ส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับ การลดลงของจำนวนโปรโตซัว เพราะเนื่องจากว่าผลผลิตสุดท้ายของกระบวนการหมักของโปรโตซัวในกระเพาะ

หมัก จะได้อะซิเตทและบิวทิเรท ส่วนการลดลงของการผลิตมีเทนจากการลดจำนวนของโปรโตซัว เนื่องจากว่าแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนประมาณ 20 เปอร์เซนต์จะอาศัยอยู่ร่วมกับโปรโตซัว เมื่อจำนวนโปรโตซัวลดลง ส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียที่ผลิตมีเทนลดลงด้วย และการลดลงของแอมโมเนียจากการเสริมซาโปนิน เพราะว่าซาโปนินจะจับตัวกับแอมโมเนีย ถ้ามีการสลายอาหารโปรตีนในกระเพาะหมักได้แอมโมเนียในปริมาณสูง และจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาทีละน้อยเมื่อมีระดับแอมโมเนียลดลง จึงทำให้มีแอมโมเนียเพียงพอสำหรับการสังเคราะห์แบคทีเรีย ทำให้เพิ่มจุลินทรีย์โปรตีน นอกจากนี้การเพิ่มจุลินทรีย์โปรตีนยังขึ้นอยู่กับ การลดลงของโปรโตซัวซึ่งเป็นผู้ล่ามันเอง การเสริมพืชที่มีซาโปนินเป็นองค์ประกอบในการเลี้ยงสัตว์จะมีผลต่อจำนวนโปรโตซัวและกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน น่าจะมาจากเหตุผลดังนี้ [2] คือ 1) ซาโปนินไม่เป็นพิษต่อแบคทีเรีย 2) อาจมีผลต่อต้านสรีรวิทยา เช่น การเปลี่ยนอัตราการกินอาหาร อัตราการหมุนเวียนในกระเพาะหมัก หรือการเพิ่มผลิตน้ำลาย เป็นต้น 3) ความแตกต่างของโครงสร้าง ส่วนประกอบ แหล่งของซาโปนิน หรือความเข้มข้นในพืชแต่ละชนิด 4) ความแตกต่างของอาหาร และการให้อาหาร เป็นต้น นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับอัตราที่ใช้ และยังสามารถขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของซาโปนินที่เป็นองค์ประกอบในพืชนั้นๆ [2 และ 15] และขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ด้วย [7 และ 15] ซาโปนินจะมีผลต่อกระบวนการหมักในกระเพาะหมักในช่วงเวลาสั้นๆ ประมาณสัปดาห์แรกของการเสริมในอาหาร หากระยะเวลาผ่านไป กระบวนการหมักก็จะกลับคือสู่สภาพปกติ [6] ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าจุลินทรีย์ในกระเพาะหมักจะมีการปรับตัว และภายในกระเพาะหมักก็มีความแปรปรวนสูง จะเห็นได้ว่าซาโปนินเป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ แต่ถ้าใช้ในปริมาณสูงก็อาจเป็นเสียต่อสัตว์ได้ [10] โดยเฉพาะเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์และอาจทำให้การกินได้ การย่อยได้และการเคลื่อนที่ของกระเพาะหมักลดลง เนื่องจากอาจมีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์สรุปได้ว่าการเสริมซาโปนินหรือพืชที่มีสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบในการเลี้ยงสัตว์ก็ด้วย

เอื้องสามารถเพิ่มการผลิตโพรพิโอเนท และจุลินทรีย์โปรตีน และสามารถลดจำนวนโปรโตซัวและการผลิตแก๊สมีเทนในกระเพาะหมักได้ในอัตราชาโปนิน 3 - 17 กรัมต่อตัวต่อวัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดสัตว์ และ ชนิดหรือ

แหล่งของชาโปนินจากพืชชนิดต่างๆ อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับผลผลิตของสัตว์ยังมีอยู่อย่างจำกัด เพื่อให้ทราบข้อมูลเหล่านี้ก็ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

ตารางที่ 2 ผลของชาโปนินต่อผลผลิตจากกระบวนการหมักในกระเพาะหมัก

Item	Control	Saponins	SEM	Source of saponins (unit)	References
Methane (mmol) ^a	1.05	0.90	0.02	Tea saponin (0.2 mg/ml)	Hu et al. (2005a)
Ammonia-N (mg/L)	14.00	12.90	0.26	Tea saponin (0.4 mg/ml)	
Acetate (%)	70.92	70.80	1.48	Tea saponin (0.4 mg/ml)	
Propionate (%) ^a	15.71	16.35	1.47	Tea saponin (0.4 mg/ml)	
Methane (mmol/L) ^a	4.47	3.89	0.09	Tea saponin (2 mg/200 mg)	Hu et al. (2005b)
Ammonia-N (mmol/L) ^a	15.66	14.39	0.25	Tea saponin (2 mg/200 mg)	
Acetate (mmol/L)	44.00	44.80	0.10	Tea saponin (8 mg/200 mg)	
Propionate (mmol/L)	15.30	15.40	0.01	Tea saponin (8 mg/200 mg)	
Ammonia-N (mg/ml) ^a	0.49	0.45	SD=0.11	S. rarak extract (0.25 mg/ml)	Wina et al. (2005b)
Acetate (%) ^a	63.60	58.00	SD=1.22	S. rarak extract (4 mg/ml)	
Propionate (%) ^a	20.80	24.00	SD= 0.17	S. rarak extract (1 mg/ml)	
Methane (mM) ^a	13.87	10.90	0.02	Yucca extract (1.2g/L)	Lila et al. (2003)
Ammonia-N (mmol/L) ^a	6.20	4.90	0.12	Yucca extract (1.2g/L)	
Acetate (mmol/L) ^a	60.80	58.00	0.55	Yucca extract (1.2g/L)	
Propionate (mmol/L) ^a	22.70	25.30	0.66	Yucca extract (1.2 g/L)	
Acetate:Propionate ^a	2.68	2.29	0.03	Yucca extract (1.2 g/L)	
Methane (mmol/d)	10.94	11.02	0.57	Yucca extract (100 mg/kg)	Sliwinski et al. (2002)
Ammonia-N (mmol/L) ^a	13.60	10.70	1.33	Yucca extract (100 mg/kg)	
Acetate (mmol/L)	65.10	58.40	0.01	Yucca extract (100 mg/kg)	
Propionate (mmol/L)	18.70	18.10	0.006	Yucca extract (100 mg/kg)	
Methane (L/d)	28.70	28.20	3.0	Alfalfa root extract (4 %DMI)	Klita et al. (1996)
Acetate (mM)	44.00	51.00	5.0	Alfalfa root extract (4 %DMI)	
Propionate (mM)	12.00	14.00	1.7	Alfalfa root extract (4 %DMI)	

หมายเหตุ : ^a ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 3 ผลของพืชที่มีซาโปนินเป็นองค์ประกอบต่อผลผลิตจากระบวนการหมักในกระเพาะหมัก

Item	Control	Saponins	SEM	Source of saponins (unit)	References
Ammonia-N (mM)	2.94	2.88	0.37	Yucca (60 g/h/d)	Hristov et al. (1999)
Acetate (mM)	49.70	50.10	0.96	Yucca (60 g/h/d)	
Propionate (mM) ^a	16.50	19.5	0.54	Yucca (60 g/h/d)	
Acetate:Propionate ^a	3.13	2.77	0.05	Yucca (60 g/h/d)	
Ammonia-N (mg/dL)	5.98	4.85	0.57	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	Abreu et al. (2004)
Acetate (%) ^a	77.90	74.10	0.35	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	
Propionate (%) ^a	15.00	17.60	0.27	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	
Acetate:Propionate ^a	5.30	4.30	0.13	Soapberry (8 g/kg ^{0.75})	
Ammonia-N (mmol/L)	7.50	7.60	0.33	Soapberry (100 mg/g)	Hess et al. (2003)
Acetate (mmol/L)	46.67	44.03	0.006	Soapberry (100 mg/g)	
Propionate (mmol/L)	23.13	23.27	0.006	Soapberry (100 mg/g)	

หมายเหตุ : ^a ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

8. เอกสารอ้างอิง

- [1] Hess, H.D., Kreuzer, M., Diaz T. E., Lascano, C.E., Carulla, J.E., Soliva, C. R. and Machmuller, A., Saponin Rich Tropical Fruits Affect Fermentation and Methanogenesis in Faunated and Defaunated Rumen Fluid, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 109 , pp. 79-94, 2003.
- [2] Eryavuz, A. and Dehority, B.A., Effect of *Yucca schidigera* Extract on the Concentration of Rumen Microorganism in Sheep, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 117, pp. 215-222, 2004.
- [3] Wina, E., Muetzel, S. and Becker, K., The Impact of Saponins or Saponin-containing Plant Materials on Ruminant Production : A Review, J. Agric. Food Chem, Vol. 53, pp. 8093-8105, 2005a.
- [4] Wina, E., Muetzel, S., Hoffmann, E., Makkar, H.P.S. and Becker, K., Saponins Containing Methanol Extract of *Sapindus rarak* Affect Microbial Community Structure *in vitro*, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 121, pp.159-174, 2005b.
- [5] Fancis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. S. and Becker, K., The Biological Action of Saponins Animal Systems: a Review, Brith. J. Nutri, Vol. 88: pp. 587-605, 2002.
- [6] Wang, Y., McAllister, T.A., Newbold, C.J., Rode, L.M., Cheeke, P.R. and Cheng, K.J., Effect of *Yucca schidigera* Extract on Fermentation and Degradation of Steroidal Saponins in the Rumen Simulation Technique (RUSITEC), Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 74, pp. 143-153, 1998.
- [7] Ivan, M., Koenig, K.M., Teferedegne, B., Newbold, C.J., Entz , T., Rode, L. M. and Ibrahim, M., Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* Foliage on the Population Dynamics of Rumen Ciliate Protozoa in Sheep, Small Rumin. Res, Vol. 52 , pp. 81-91, 2004.
- [8] Hu, W.L., Liu, J.X., Ye, J.A., Wu, U.M. and Guo, Y. Q., Effect of Tea Saponin on Rumen Fermentation *in vitro*, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 120 , pp. 333-339, 2005a.

- [9] Hu, W.L., Wu, Y.M., Liu, J. X., Guo, Y.Q. and Ye, J.A., Tea Saponins Affect *in vitro* Fermentation and Methanogenesis in Faunated and Defaunated Fluid, J. Zhejiang Univ. Sci, Vol. 6B, pp. 787-792, 2005b.
- [10] Hu, W.L., Liu, J.X., Wu, U.M., Guo, Y.Q. and Ye, J.A., Effects of Tea Saponins on *in vitro* Ruminant Fermentation and Growth Performance in Growing Boer Goat, Arch. Anim. Nutr. ,Vol. 60 , pp. 89-97, 2006.
- [11] Kamar, D.N., Agarwal, N. and Chaudhary, L.C., Inhibition of Ruminant Methanogenesis by Tropical Plants Containing Secondary Compounds, International Congress Series, Vol. 1293 , pp. 156-163, 2006.
- [12] Lila, Z.A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T. and Itabashi, H., Effect of Sarsaponin on Ruminant Fermentation with Particular Reference to Methane Production *in vitro*, J. Dairy Sci, Vol. 86 , pp. 3330-3336, 2003.
- [13] Klita, P.T., Mathison, G.W., Fenton, T.W. and Hardin, R.T., Effect of Alfalfa Root Saponins on Digestive Function in Sheep, J. Anim. Sci, Vol. 74, pp. 1144-1156, 1996.
- [14] Hristov, A.N., McAllister, T.A., Van Herk, F. H., Cheng, K.J., Newbold, C.J. and Cheeke, P.R., Effect of *Yucca schidigera* on Ruminant Fermentation and Nutrient and Digestion in Heifers, J. Anim. Sci, Vol. 77, pp. 2554-2563, 1999.
- [15] Teferedegne, B., McIntosh, F., Osuji, P.O., Odenyo, A., Wallace, R.J. and Newbold, C.J., Influence of Foliage from Different Accessions of the Sub-tropical Leguminous Tree, *Sesbania sesban* on Ruminant Protozoa in Eithiopian and Scottish Sheep, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 78 , pp. 11-20, 1999.
- [16] Wu, Z., Sadik, M., Sleiman, F.T., Simas, J.M., Pessarakli, M. and Huber, J.T., Influence of *Yucca* Extract on Ruminant Metabolism in Cows, J. Anim. Sci, Vol. 72, pp. 1038-1042, 1994.
- [17] Abreu, A., Carulla, J.E., Lascano, C.E., TDiaz, .E., Kreuzer, M. and Hess, H. D., Effect of *Sapindus saponaria* Fruits on Ruminant Fermentation and Duodenal Nitrogen Flow of Sheep Fed a Tropical Grass Diet with and without Legume, J. Anim. Sci, Vol. 82, pp. 1392-1400, 2004.
- [18] Sliwinski, B.J., Soliva, C. R., Machmuller, A. and Kreuzer, M., Effect of Plant Extracts Rich in Secondary Constituents to Modify Rumen Fermentation, Anim. Feed Sci. Technol, Vol. 101, pp. 101-114, 2002.