

Institut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach
Zakład Biochemii i Fizjologii Roślin Uprawnych

Piotr M. GÓRSKI, Janusz ŻUREK,
Anna ŻUREK

**Wpływ koncentratów białkowych z lucerny
o różnej zawartości saponin w diecie na wzrost, narządy wewnętrzne
oraz obraz krwi obwodowej myszy**

Влияние белковых концентратов из люцерны, содержащих разное количество сапонинов, на рост, внутренние органы и картину периферической крови у мышей

Dietary Effect of Protein Concentrates from Alfalfa with Low and High Saponin Content on the Growth, Internal Organs and Blood in Mice

Z powodu wysokich i stale rosnących cen importowanych pasz wysokobiałkowych wprowadzane są w żywieniu zwierząt jednożołądkowych koncentraty białek roślinnych (PC — *protein concentrate*). PC z lucerny zawiera jednak związki antyżywniowe — saponiny (7, 12). W następnej pracy wykazano, że dieta zawierająca PC uzyskany z lucerny nie-selekcjonowanej jest toksyczna dla myszy. Dieta zawierająca PC uzyskany z lucerny niskosaponinowej nie wykazuje właściwości toksycznych, jednak nie powoduje przyrostów masy ciała myszy. Dodatek metioniny do tych diet zmniejsza ich antyżywniowe działanie i poprawia przyrost wagi myszy (6).

Ostatnio czynione są próby zastosowania saponin lucerny w leczeniu arteriosklerozy. W doświadczeniach na zwierzętach (szczury, króliki, małpy) wykazano, że saponiny lucerny podane doustnie obniżają poziom cholesterolu i lipidów we krwi (13, 14). Opisano również próbę leczenia arteriosklerozy u człowieka (15).

Ponieważ stwierdziliśmy w poprzednich doświadczeniach (4, 9), że saponiny lucerny, podane parenteralnie i doustnie, powodują zmiany patologiczne w narządach wewnętrznych i krwi obwodowej zwierząt doświad-

czalnych, postanowiono obecnie zbadać, czy żywienie myszy koncentratami białkowymi o różnej zawartości saponin powoduje zmiany w narządach wewnętrznych i krwi obwodowej tych zwierząt.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 3-tygodniowych białych myszy o masie $13 \pm 0,1$ g, hodowli wsobnej. Myszy podzielono losowo na 3 grupy po 3 samce i 3 samice w każdej grupie. Myszy przebywały pojedynczo w klatkach i były karmione paszą i wodą *ad libitum*. Pasza składała się w 10% z białka, 76% skrobi ziemniaczanej rozklejonej, 8% oleju sojowego, 5% soli mineralnych i 1% witamin (16). Pierwsza grupa „N” otrzymała białko w postaci PC z lucerny niskosaponinowej, druga grupa „W” otrzymywała paszę zawierającą PC z lucerny nieselekcjonowanej odm. Kleszczewskiej, trzecia grupa, kontrolna, „O”, otrzymywała paszę zawierającą kazeinę. Zawartość saponin w dietach zestawiono w tab. 1. Koncentraty z lucerny nieselekcjonowanej i niskosaponinowej nie różniły się składem aminokwasowym (6). Doświadczenia prowadzono 13 dni. Następnie zwierzęta ważono, uśmiercano, ważono wątrobę i śledzionę oraz pobierano krew, w której oznaczano zawartość białych i czerwonych ciałek, zawartość hemoglobiny i hematokryt. W celu porównania wyników stosowano analizę wariancji oraz test *t* Studenta.

Tab. 1. Zawartość saponin i białka w koncentraty białkowych (PC) i w dietach
Contents of saponin and protein in protein concentrates (PC) and diets

Dieta Diet	Zawartość białka w PC Protein content in PC (%)	Zawartość białka w diecie Protein content in diet (%)	Zawartość saponin w PC Saponins content in PC (%)	Zawartość saponin w diecie Saponins content in diet (%)
O	—	10,0	—	—
N	46,0	10,0	0,4	0,08
W	46,7	10,0	0,7	0,14

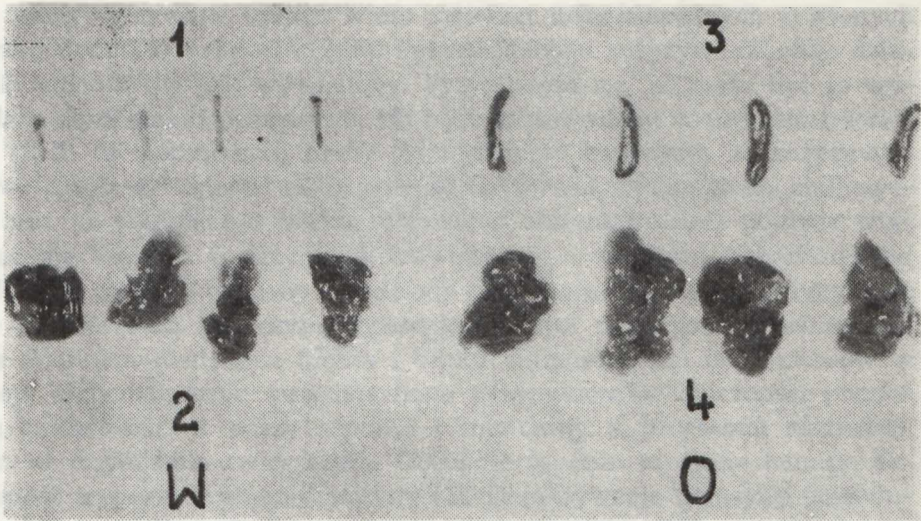
Objaśnienia: O — dieta bezsaponinowa, N — dieta niskosaponinowa, W — dieta wysokosaponinowa.

Explanation: O — diet without saponin, N — low saponin diet, W — high saponin diet.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki przeprowadzonych badań zestawiono w tab. 2 i 3. Dodatkowo przyrosty wagowe obserwowano tylko u zwierząt grupy kontrolnej. W grupie „W” nastąpił gwałtowny spadek ciężaru ciała myszy i padnięcie 2 zwierząt 12 dnia doświadczenia. Spadek ten połączony był z drastycznym zmniejszeniem ilości zjadanej paszy. Myszy grupy „N” zjadały znacznie więcej karmy ($p < 0,001$), a spadek ich masy ciała był mniejszy.

Pogorszenie przyrostów masy ciała oraz zmniejszenie ilości pobiera-

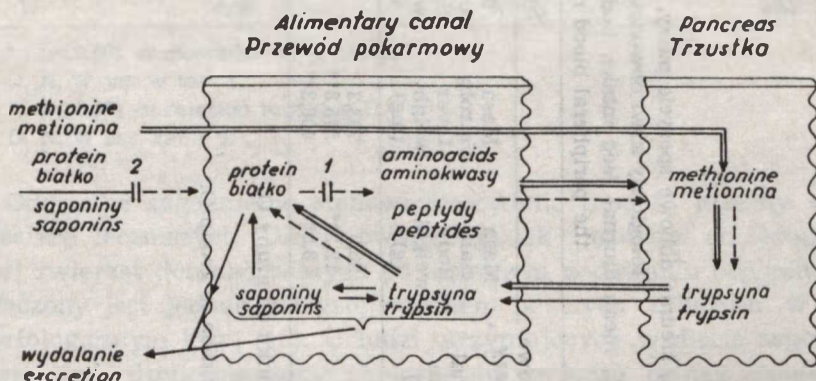


Ryc. 1. Fotografia narządów wewnętrznych myszy karmionych dietą kontrolną — O i zawierającą WPC — W, 1 i 3 śledziona, 2 i 4 wątroby
 Photograph of the internal organs of mice fed on the control diet — O, and the diet containing high saponin PC — W, 1 and 3 spleens, 2 and 4 livers



[Faint, mostly illegible text, likely a description of the experimental results or anatomical details related to the figure.]

nej paszy opisywane były u wielu zwierząt doświadczalnych żywionych paszą z dodatkiem saponin (2, 5). Patomechanizm antyżywnościowego działania saponin nie jest wyjaśniony. Przypuszcza się, że może być to wywołane złym smakiem paszy (3, 10) bądź zaburzeniami w procesie trawienia (7, 8). W poprzedniej pracy (6) wysunięto koncepcję, że antyżywnościowe działanie saponin może polegać na wywoływaniu głodu białkowego oraz na pogłębianiu braku równowagi aminokwasowej poprzez wiązanie się saponin z enzymami trawiennymi i białkami. Obserwowane zmiany w ciężarze wątroby i śledziony (ryc. 1 oraz tab. 2 i 3) byłyby więc nie bezpośrednią przyczyną działania saponin na organizm zwierzęcy, lecz skutkiem niedoboru białka i braku zbilansowania aminokwasów w paszy. Schematycznie przedstawiono przypuszczalne zależności pomiędzy zawartością w paszy saponin i metioniny a procesami zachodzącymi w organizmie zwierzęcym. Obecność saponin w diecie hamuje aktywność trypsyny i chymotrypsyny (7). Dezaktywacja trypsyny powoduje z kolei zwiększenie jej produkcji przez trzustkę (11), co przy braku między innymi metioniny, niezbędnej w syntezie trypsyny (11), prowadzi



Proponowany schemat, wyjaśniający znoszenie przez metioninę toksycznego działania saponin. Inhibicja trypsyny przez saponiny hamuje trawienie i pobieranie aminokwasów, między innymi metioniny (blok 1). Wzrastające wydzielanie trypsyny przy braku metioniny prowadzi do zachwiania równowagi aminokwasowej, a to do zahamowania pobierania paszy (blok 2) i objawów głodowych. Dodatek metioniny do paszy (linia podwójna) zwiększa produkcję trypsyny znosząc blok 1. Ponieważ nie występuje deficyt metioniny, blok 2 również jest zniesiony

A proposed scheme to explain the role of methionine in abolishing the antinutritional action of saponins. Saponins inhibit trypsin. Digestion of proteins and intake of aminoacids (methionine) are inhibited (block 1). The increased secretion of trypsin and the low methionine income caused the disturbance in aminoacid equilibrium. These leads to decrease in feed intake (block 2) and to starvation effects. The addition of methionine to the diet (double line) increased trypsin production, abolishing block 1. Since methionine is not deficient, block 2 does not work

Tab. 2. Względny przyrost masy ciała, średnie dobowe spożycie paszy, średnia masa ciała wątroby i śledziony oraz obraz morfologiczny krwi obwodowej myszy
 Relative values of body weight gains, mean diurnal feed intake, body, liver and spleen weights, and some parameters of the peripheral blood of mice

Dieta Diet	Względny przyrost masy ciała Body weight gains (%)	Średnie dobowe spożycie paszy (g/mysz) Mean diurnal feed intake (g/mouse)	Masa ciała Body weight (g)	Masa wątroby Liver weight (mg)	Masa śledziony Spleen weight (mg)	Średnia wartość — Mean value				
						Leukocyty Leucocytes G/L	Erytrocyty Erythrocyte T/L	Hemoglobina Hemoglobin mmol/L	Hematokryt Hematocrit L/L	
O	54	4,95	23,3	793,3	78,0	6,78	7,59	8,0	0,49	
N	-8**	3,20**	12,2**	575,8**	30,4**	5,28*	6,98	8,4	0,45	
W	-32**	2,42**	8,8**	406,3**	12,5**	4,23*	7,86	9,2	0,45	

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ w stosunku do grupy O.

O, N, W jak w tab. 1.

* $p < 0,01$; ** $p < 0,001$ in relation to group O.

O, N, W see Table 1.

do zachwiania równowagi aminokwasowej w organizmie. Brak równowagi aminokwasowej powoduje według Rakowskiej (16) bardzo silne ograniczenie pobierania pokarmu przez zwierzęta i występowanie zmian głodowych w ich organizmach. Świadczy o tym zmniejszenie ciężaru ciała myszy, a zwłaszcza gwałtowny spadek masy śledziony w stosunku do masy ciała i innych narządów wewnętrznych, typowy dla zwierząt głodzonych (1) — tab. 2 i 3. Dodatek metioniny do paszy pozwala na wzrost wydzielania trypsyny, bez zachwiania równowagi aminokwasowej w organizmie, co powoduje lepsze trawienie białka przy nie zmniejszonym pobieraniu paszy (11).

Tab. 3. Stosunek masy wątroby i śledziony do masy ciała zwierząt
Ratio of liver and spleen weight to the body weight of the animals

Dieta Diet	Stosunek masy wątroby do masy ciała Ratio of liver to body weight (%)	Stosunek masy śledziony do masy ciała Ratio of spleen to body weight (%)	Stosunek masy wątroby do masy śledziony Ratio of liver to spleen weight (%)
O	3,95	0,40	10,2
N	4,79	0,25*	20,0*
W	4,29	0,14*	32,7*

* $p < 0,001$ w stosunku do grupy O.

O, N, W jak w tab. 1.

* $p < 0,001$ in relation to group O.

O, N, W see Table 1.

Oddzielne zagadnienie stanowi stosowanie saponin lucerny w diecie w celach leczniczych. Obserwowany spadek poziomu cholesterolu we krwi zwierząt doświadczalnych po doustnym podawaniu saponin lucerny połączony jest jednak z występowaniem pewnych zaburzeń w obrazie morfologicznym krwi (15). U ludzi otrzymujących w diecie saponiny lucerny stwierdzono obniżenie cholesterolu we krwi, jednak zaobserwowano również po 5 mies. gwałtowne obniżenie zawartości płytek krwi, czerwonych i białych ciałek oraz zawartości hemoglobiny we krwi. Stwierdzone symptomy pancytopenii ustępowały samoistnie po przerwaniu podawania saponin. Malinow i in. (15) przypuszczają, że zmiany te mogą być wywołane obecnością w roślinach lucerny jakiegoś czynnika toksycznego, poza saponinami. W obecnie przeprowadzonych doświadczeniach nie stwierdzono wyraźnych zmian we krwi obwodowej myszy (tab. 2), z wyjątkiem znamiennego obniżenia ilości leukocytów. Być może, że okres podawania saponin (13 dni) był zbyt krótki, by wystąpiły wyraźne zmiany w morfologii krwi.

WNIOSKI

1. Myszy karmione paszą zawierającą koncentrat białkowy o wyższej zawartości saponin spożywały mniej paszy i gwałtownie spadały na wadze. Myszy karmione paszą zawierającą koncentrat białkowy o niskiej zawartości saponin wykazywały większe spożycie paszy i mniejsze spadki masy ciała.

2. Masa wątroby oraz śledziony myszy karmionych paszą zawierającą koncentraty białka, zarówno o wysokiej, jak i niskiej zawartości saponin, była niższa niż u myszy karmionych paszą zawierającą kazeinę.

3. Stosunek ciężaru śledziony do ciężaru ciała był niższy u myszy karmionych paszą zawierającą saponiny w porównaniu do myszy grupy kontrolnej. Jest to wywołane zmniejszonym spożyciem paszy przez myszy.

4. W grupie zwierząt karmionych koncentratami białkowymi zawierającymi saponiny zaobserwowano spadek leukocytów we krwi obwodowej.

5. Należy sądzić, że antyżywniowe działanie saponin polega na blokowaniu aktywności trypsyny, co powoduje zachwianie bilansu aminokwasów oraz, jako reakcję obronną, zmniejszenie pobierania paszy.

PISMIENNICTWO

1. Büchner F., Letterer E., Rouleff F.: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*. Springer Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg 1962.
2. Cheeke P. R.: Nutritional and Physiological Implications of Saponins. *Can. J. Anim. Sci.* **51**, 621—625 (1971).
3. Cheeke P. R., Kinzell J. H., Pedersen W. W.: Influence of Saponin on Alfalfa Utilization by Rats, Rabbits and Swine. *J. Anim. Sci.* **46**, 476—478 (1977).
4. Górski P., Górski G., Jurzysta M.: Wpływ saponin lucerny w diecie myszy na wzrost, narządy wewnętrzne oraz obraz morfologiczny krwi obwodowej. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C* **32**, 175—180 (1977).
5. Górski P. M. i współprac.: Studies on *Medicago lupulina* Saponins III. Effect of *M. lupulina* Saponins on the Growth and Feed Utilization by Mice. *Acta Soc. Bot. Pol.* **4**, 53 (1984).
6. Górski P. M., Jurzysta M., Płoszyński M.: Badania jakości koncentratów białkowych z lucerny nieselekcjonowanej i niskosaponinowej. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C* **41**, 151—161 (1986).
7. Hegsted M., Linkswiler H. M.: Protein Quality of High and Low Saponin Alfalfa Protein Concentrate. I. *Sci. Food Agric.* **31**, 777—781 (1980).
8. Ishaaya J., Birk Y.: Soybean Saponins. IV. The Effect of Protein on the Inhibitory Activity of Soybean Saponins on Certain Enzymes. *J. Food. Sci.* **30**, 118—120 (1965).
9. Jankowska-Chadaj S. i współprac.: Wpływ saponin lucerny na niektóre wskaźniki biochemiczne krwi i wątroby szczurów szczepu Wistar przy podaniu

- parenteralnym. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C* **34**, 175—185 (1979).
10. Kendall W. A., Leath K. T.: *Effect of Saponins on Palatability of Alfalfa to Meadow Vales. Agronomy J.* **68**, 473—476 (1976).
 11. Liener J. E., Kakade H. L.: *Protease Inhibitors. [w:] Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. Ed. Liener, Acad. Press, New York—London 1969.*
 12. Livingston A. L. i współprac.: *Distribution of Saponins in Alfalfa Protein in Recovery Systems. J. Agric. Food Chem.* **27**, 362—365 (1979).
 13. Malinow M. R. i współprac.: *Effect of Alfalfa Neal on Shriukage (Regression) of Atherosclerotic Plaques During Cholesterol Feeding in Monkeys. Atherosclerosis* **30**, 27—43 (1978).
 14. Malinow M. R. i współprac.: *Alfalfa Saponins and Alfalfa Seeds: Dietary Effects in Cholesterol-Fed Rabbits. Atherosclerosis* **37**, 433—437 (1980).
 15. Malinow M. R., Bardana E. J. Jr., Goodnought S. H. Jr.: *Pancytopenia During Ingestion of Alfalfa Seeds. The Lancet* **1**, 615 (1981).
 16. Rakowska M., Szkiłładziowa W., Kunachowicz H.: *Biologiczna wartość białka żywności. WNT, Warszawa 1978.*

РЕЗЮМЕ

Мыши, которых кормили кормом, содержащим белковый концентрат с большим количеством сапонинов, резко теряли вес. Мыши, кормленные кормом, содержащим белковый концентрат с низким количеством сапонинов, отличались большим потреблением корма и меньшим падением веса тела. Установлено, что вес печени и селезенки ниже у мышей, кормленных белковым концентратом с высшим содержанием сапонинов, а выше у мышей, кормленных белковым концентратом с низшим содержанием сапонинов (по сравнению с контрольной группой). Кроме того, отношение веса селезенки к весу тела существенно ниже у мышей, кормленных кормом, содержащим сапонины. В этой группе животных наблюдали падение лейкоцитов в периферической крови, но не наблюдали отчетливых разниц в количестве эритроцитов в крови, содержании гемоглобина и в гематокрите. Авторы анализируют механизм антипитательного действия сапонинов и роль метионина в этом процессе.

SUMMARY

Mice fed on diet containing protein concentrate of high saponin contents rapidly decreased in body weight. Mice fed on diet containing protein concentrate of low-saponin contents showed higher feed intake and lower decrease in body weight. It was found that liver and spleen weights were lower in mice fed on diet containing protein concentrate of high saponin contents and higher in mice fed on protein concentrate of low-saponin contents in comparison with the control group of mice. Also the ratio of the spleen to the body weight was lower in mice fed on saponin diet. In these groups of animals the decrease in number of leucocytes was found, but the number of erythrocytes, hemoglobin level and hematocrite were unchanged. The role of saponins and methionine in the process of feed utilisation was discussed.

