



## ارزیابی اثر مهارکننده های طبیعی و دارویی بر فعالیت لیپولیتیک مایع شکمبه در شرایط برون تنی

رسول رضائی\*، علی محرری

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

(\*نویسنده مسئول: [rs.rezaei@gmail.com](mailto:rs.rezaei@gmail.com))

### چکیده

مکمل های چربی محافظت نشده در تغذیه نشخوارکنندگان می توانند وسعت و الگوی تخمیر در شکمبه را تحت تأثیر قرار دهند. این اثرات منفی ناشی از اثرات سمی اسیدهای چرب آزاد بر میکروبیهای شکمبه می باشد. هدف از این تحقیق تلاش در جهت به حداقل رساندن فعالیت لیپولیتیک با استفاده از ترکیبات پلی فنولیک و کافئین در مواد طبیعی نظیر چای، قهوه، پوسته نرم پسته، پوسته سبز گردو، عصاره کاه گندم و مواد نیمه سنتتیک نظیر اورلیستات و مفنمیک اسید بود. انکوباسیون *in vitro* با مایع شکمبه، ۷ تیمار مذکور با دوزهای محاسبه شده براساس مقادیر پیشنهادی و امولسیون روغن زیتون در ویال ها، بصورت کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به مدت ۴ ساعت انجام پذیرفت. مقادیر اسیدهای چرب تولید شده در طول انکوباسیون با روش تیتراسیون تعیین گردید. نتایج نشان داد بیشترین فعالیت لیپولیتیک مربوط به تیمار حاوی پوسته نرم پسته است ( $P < 0.05$ )، و تیمارهای پوسته سبز گردو و عصاره کاه گندم نیز در درجات بعدی نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی داری را نشان دادند ( $P < 0.05$ ). از طرفی تیمارهای حاوی مفنمیک اسید، قهوه، چای و اورلیستات دارای کمترین فعالیت لیپولیتیک بودند که تفاوت معنی داری بین آنها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). این نتایج شواهدی را ارائه می دهد که وجود ترکیبات فعال موجود در چای، قهوه و همچنین موادی مثل اورلیستات و مفنمیک اسید، پتانسیل کاهش فعالیت لیپولیتیک را در شکمبه خواهند داشت.

واژه های کلیدی: مهارکننده، فعالیت لیپاز، انکوباسیون، مایع شکمبه.

### مقدمه

با وجود اینکه جیره نشخوارکنندگان تقریباً غنی از اسیدهای چرب با چند پیوند دوگانه می باشند، درجه اشباعیت اسیدهای چرب موجود در محصولات آنها (شامل؛ شیر، گوشت و محصولات لبنی) به مراتب بیشتر است لذا متابولیسم اسیدهای چرب لیپیدهای جیره در شکمبه اثر قابل توجهی بر ترکیب اسیدهای چرب بافتی و پروفایل چربی شیر حیوانات نشخوارکننده دارد. از اینرو درجه اشباعیت بالای چنین محصولاتی می تواند بر سلامت انسان اثرات مضر داشته باشند. اشباع سازی چربی ها مستقیماً ناشی از احیاء (بیوهیدروژناسیون) اسیدهای چرب غیر اشباع توسط میکروارگانیسم های شکمبه است. از طرفی بازده بیوهیدروژناسیون اسیدهای چرب غیر اشباع کامل نبوده و می تواند منجر به تولید اسیدهای چرب ترانس شده که اثرات بعضی از انواع این تپ اسیدهای چرب بر افت چربی شیر به اثبات رسیده است. محققان، گذشته از اثرات مضر چربی (خصوصاً چربی های غیر اشباع) بر فرآیندهای هضمی شکمبه، جهت اصلاح پروفایل اسیدهای چرب در تولیدات نشخوارکنندگان، دو راهکار استفاده از چربی های محافظت شده و تغییر فرآیندهای متابولیکی میکروبی را ارائه کرده اند. گزارشات نشان می دهد که عواملی نظیر pH پایین شکمبه و افزایش سهم اسیدهای چرب غیر اشباع در نمک های کلسیمی اسیدهای چرب می تواند منجر تفکیک کمپلکس اسیدهای چرب -



کلسیم شده و در این شرایط بیوهیدروژناسیون رخ می‌دهد. در فرآیندهای میکروبی شکمبه، لیپولیز یک پیش‌نیاز برای بیوهیدروژناسیون است زیرا آنزیمهای درگیر در اشیاع سازی تنها بر روی اسیدهای چرب آزاد عمل می‌کنند. به هر حال، به نظر می‌رسد با مهار فعالیت لیپولیز در شکمبه می‌توان اثرات منفی متعاقب آن که ممکن است به وجود آید جلوگیری به عمل آورد. بازدارنده‌های لیپاز به طور طبیعی در برخی گیاهان یافت می‌شوند، این ترکیبات شیمیایی از قبیل ساپونین، پلی‌فنول‌ها و کافئین می‌باشند که اثرات بازدارندگی آنها بر آنزیم لیپاز به اثبات رسیده است. پوسته نرم پسته و پوسته سبز گردو غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک می‌باشند. ترکیبات نیمه سنتتیک دیگری مانند اورلیستات و مفنایمیک اسید نیز به عنوان مهارکننده‌های قوی آنزیم لیپاز شناخته شده‌اند. هرچند مطالعات انجام شده در این ارتباط بسیار محدود می‌باشند لذا تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اثرات بازدارنده‌های طبیعی و سنتتیک آنزیم لیپاز بر میزان تجمع اسیدهای چرب آزاد در طول انکوباسیون *in vitro* همراه با میکروب‌های میکس شده شکمبه انجام پذیرفت.

## مواد و روش‌ها

از ۴ ماده حاوی بازدارنده‌های طبیعی (ترکیبات پلی‌فنولیک و کافئین) شامل چای، قهوه، پوسته نرم پسته، پوسته سبز گردو و عصاره کاه گندم (بصورت پودر شده) و ۲ بازدارنده نیمه سنتتیک شامل اورلیستات و مفنایمیک اسید استفاده شد. نمونه‌ها با امولسیون روغن زیتون همراه با شیرابه تازه شکمبه گوسفند به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد مطابق روش توصیه شده منک و استینگس (۱۹۸۸) انکوبه شدند. اطلاعات مربوط به محتوای اسیدهای چرب موجود در روغن زیتون در جدول ۱ آورده شده است. پس از اتمام مرحله انکوباسیون جهت توقف فعالیت میکروبی بلافاصله اتانول مطلق به نمونه‌ها اضافه گردید. فعالیت لیپاز مایع شکمبه با تیتراسیون اسیدهای چرب تولید شده ناشی از هیدرولیز مطابق با روش چری و کراندال (تشریح شده توسط آسر، ۱۹۶۵) تعیین گردید و اسیدهای چرب تولید شده با محلول سدیم هیدروکساید ۰/۰۵ نرمال تیترا شدند. واحدهای فعالیت لیپاز در هر میلی‌لیتر نمونه آنزیم به صورت میلی‌لیتر سدیم هیدروکساید مصرفی برای تیتراسیون اسیدهای چرب تولید شده ناشی از هیدرولیز محاسبه شدند. میزان اسید چرب تولیدی برای هر نمونه بر اساس نمونه‌های خام (Blank) تصحیح گردیدند. مقادیر ماده اصلی مورد هدف در هر نمونه بر اساس غلظت بازدارندگی مؤثر (ki value) و همچنین حجم معمول شکمبه، برای مواد دارویی و مواد طبیعی محاسبه شدند (زولتر، ۱۹۹۹ و یان، ۲۰۱۰). این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۶ تیمار (مواد بازدارنده) و ۳ تکرار انجام پذیرفت و داده‌ها با رویه GLM نرم افزار SAS تجزیه آماری شدند و در صورتیکه اثر تیمار معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) تشخیص داده شد میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه گردیدند.

## نتایج و بحث

اثر تیمارهای مختلف بر فعالیت آنزیم لیپاز مایع شکمبه در جدول ۲ ارائه شده‌اند. بیشترین فعالیت لیپولیتیک مربوط به تیمار حاوی پوسته نرم پسته می‌باشد ( $P < 0/05$ )، و تیمارهای پوسته سبز گردو و عصاره کاه گندم نیز در درجات بعدی نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری را نشان دادند ( $P < 0/05$ ). دلیل چنین افزایش فعالیت برای تیمارهای پوسته نرم پسته، پوسته سبز گردو و عصاره کاه گندم کاملاً مشخص نیست. ترکیبات پلی‌فنولی گیاهی قادرند آنزیم‌های درگیر در متابولیسم چربی‌ها را مهارکنند اما تأثیر فعالیت لیپازهای موجود در این مواد می‌تواند به مراتب بیشتر از اثر بخشی ترکیبات پلی‌فنولیک موجود در آنها باشد. به هر



حال این جنبه نیازمند تحقیقات بیشتری می باشد. از طرفی به ترتیب تیمارهای حاوی مفنمیک اسید، قهوه، چای و اورلیستات دارای کمترین فعالیت لیپولیتیک بودند که تفاوت معنی داری بین آنها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). کوسانو و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که چای سیاه حاوی بیش از ۶۰ درصد پلی فنول بوده که بسیاری از آنها پتانسیل مهار فعالیت لیپاز را دارند. محققان اثرات مواد نیمه سنتتیک نظیر مفنمیک اسید و اورلیستات را بر کاهش فعالیت لیپولیتیک ارائه کرده اند. هرچند بورگستورم (۱۹۸۸) اورلیستات را به عنوان یک مهارکننده برای لیپازهای مشخص باکتریایی معرفی کرد. که این نتیجه با تحقیق حاضر همسو می باشد.

#### منابع

- Borgstrom B. 1988. Mode of Action of Tetrahydrolipstatin - a Derivative of the Naturally-Occurring Lipase Inhibitor Lipstatin. *Biochim Biophys Acta*, 962: 308–316.
- Kusano R, Andou H, Fujieda M, Tanaka T, Matsuo Y, Kouno I. 2008. Polymer-like polyphenols of black tea and their lipase and amylase inhibitory activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(3): 266-72.
- Menke KH, Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28: 7-55.
- Oser BL. 1965. *Hawks Physiological Chemistry*. 14th edition. , New York :TATA McGraw Hill publishing Co.LTD. P 1123.
- Yun JW. 2010. Possible anti-obesity therapeutics from nature – A review. *Phytochemistry*, 71: 1625–1641.
- Zollner H. 1999. *Handbook of enzyme inhibitors*. 3rd, revised and enlarged edition. Weinheim ; New York; Chichester ; Brisbane ; Singapore; Toronto : WILEY-VCH. P 2970.

جدول ۱: اطلاعات مربوط به ترکیب اسیدهای چرب بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم روغن زیتون

P:S	Total MUFA	Total PUFA	Total SFA	C18:3	C18:2	C18:1	C18:0	C16:0	C14:1	C14:0
۰/۹۲	۶۸/۱	۱۵	۱۵/۲	۳/۹	۱۰/۱	۶۱/۵	۴/۲	۱۰/۶	۰/۷	۰/۴

SFA : Saturated fatty acid- PUFA: Polyunsaturated fatty acid- MUFA : Monounsaturated fatty acids

P:S : PUFA: SFA



جدول ۲: اثر تیمارهای مختلف بر فعالیت لیپاز مایع شکمبه

SEM	فعالیت آنزیم							لیپاز
	مفنامیک اسید	اورلیستات	عصاره کاه گندم	پوسته سبز گردو	پوسته نرم پسته	قهوه	چای	
۰/۰۶۷	۰/۱۷۳ <sup>c</sup>	۰/۷ <sup>c</sup>	۳/۰۲۲۲ <sup>b</sup>	۳/۱۴۸ <sup>b</sup>	۳/۹۰۴ <sup>a</sup>	۰/۲۰۲ <sup>c</sup>	۰/۳۷۵ <sup>c</sup>	

واحد فعالیت آنزیم (Unit.mL<sup>-1</sup>) می باشد.

میانگین ها با حروف مشابه در ردیف تفاوت معنی داری با یکدیگر ندارند (P>۰/۰۵).