

# 石榴皮多酚提取物对亚急性瘤胃酸中毒 相关有害因子的影响

杜宇 王之盛\* 董利锋

(四川农业大学动物营养研究所, 雅安 625014)

**摘要:** 本文通过建立体外亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA)模型, 研究不同添加水平的石榴皮多酚提取物(pomegranate peel polyphenol extract, PPPE)对 SARA 相关有害因子的影响。试验采用单因素试验设计, PPPE 设 3 个添加水平, 即分别为发酵底物质量的 0、4.5% 和 9.0%, 每个水平设 5 个重复。结果表明: 随发酵时间的延长, 各组发酵液的 pH 逐渐下降, 添加 PPPE 可减缓 pH 的下降, 且 PPPE 添加量为 4.5% 的组发酵液 pH 在 6、12、18 h 时显著高于添加量为 9.0% 的组 ( $P < 0.05$ )。添加 PPPE 显著降低发酵液中内毒素和组胺含量 ( $P < 0.05$ ), 且呈现剂量效应。添加 PPPE 后, 发酵液中各挥发性脂肪酸含量均有不同程度地降低, 并在部分时间点达到显著水平 ( $P < 0.05$ )。在本试验条件下, 添加 PPPE 有助于缓解 SARA, 且以 4.5% 的添加量效果较好。

**关键词:** 石榴皮多酚提取物; 亚急性瘤胃酸中毒; 体外发酵

**中图分类号:** S823

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2011)11-2031-06

反刍动物过食以淀粉为主的易发酵碳水化合物易发生亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA), SARA 的显著特点是瘤胃 pH 偏低 (pH 5.0 ~ 5.5)。瘤胃发酵产生大量的挥发性脂肪酸 (volatile fatty acid, VFA), 超过了瘤胃吸收与中和能力, 过量的 VFA 在瘤胃中积累是造成 pH 降低的主因<sup>[1-2]</sup>。同时, pH 降低还造成了瘤胃内环境的变化, 促使内毒素、组胺等有害物质的产生<sup>[3-4]</sup>。因此, 抑制过量 VFA 的积累将有助于降低 SARA 的发生。近期研究发现, 植物多酚(也称单宁)提取物具有抑制 VFA 产生的作用<sup>[5-7]</sup>, 但目前未见植物多酚应用于 SARA 的报道, 因此有必要将植物多酚对 SARA 的影响作初步研究。本研究采用体外发酵建立 SARA 模型, 以此评价石榴皮多酚提取物(pomegranate peel polyphenol extract, PPPE)对 SARA 相关有害因子的影响, 为预防肉牛 SARA 提供试验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

PPPE 购自陕西森弗生物技术有限公司, 多酚实测含量为 60.68%, 其余成分主要为树脂和树胶。

### 1.2 瘤胃液的采集

瘤胃液取自 3 头装有永久性瘤胃瘘管且健康的宣汉黄牛, 饲喂精粗比为 3:7 的饲粮, 每日于 07:00 和 18:00 各饲喂 1 次, 自由饮水。于晨饲后 2 h 采集瘤胃内容物, 经 4 层消毒纱布过滤并混匀。滤液作为体外发酵液的接种物。

### 1.3 体外发酵液和底物的制备

体外发酵液参照 Menke 等<sup>[8]</sup>的方法制备, 以风干玉米和鲜白酒糟分别粉碎后的 40 目筛下物作为发酵底物。

收稿日期: 2011-05-14

基金项目: 现代农业(肉牛牦牛)产业技术体系资金资助(CARS-38)

作者简介: 杜宇(1981—), 男, 四川广元人, 硕士研究生, 从事反刍动物营养研究。E-mail: dofrees8@foxmail.com

\* 通讯作者: 王之盛, 教授, 博士生导师, E-mail: wangzs@sicau.edu.cn

## 1.4 试验设计

采用单因素试验设计, PPPE 添加水平分别为发酵底物质量的 0、4.5% 和 9.0%, 即 I、II 和 III 组, 每组 5 个重复。采用改良的 Menke 等<sup>[8]</sup>介绍的人工瘤胃装置进行体外发酵, 将 240 mL 发酵液、8 g (风干玉米、鲜白酒糟各 4 g) 发酵底物以及一定比例的 PPPE 混合后迅速密封, 并立刻置于 39 °C 水浴摇床中, 以 90 r/min 的速率震荡, 分别于 6、12、18、24、36 h 时取样测定。以发酵液在分装前取样测定的 pH 作为 0 h 的值, 为各组共用。

## 1.5 样品的采集与保存

于上述采样时间点对每样分别取 3 mL 样液, 经尼龙布过滤测定滤液 pH 后, 迅速将滤液样存于 -20 °C 待测。

## 1.6 测定指标及方法

采用酸度计(雷磁 PHS-3C, 上海)测定 pH; 参照丁学智等<sup>[9]</sup>的方法测定各 VFA (乙酸、丙酸、丁酸) 含量; 采用酶联免疫吸附试剂盒 (Unionhonest,

USA) 测定内毒素、组胺、乳酸含量; 牛链球菌 (*Streptococcus bovis*) 引物设计参考 Ehsan 等<sup>[10]</sup>的方法, 其含量采用荧光相对定量 PCR 法测定 (仪器: Bio-Rad CFX96 PCR; 试剂: Bio-Rad Ssofast Evagreen supermix, USA), 以占细菌总量的百分比表示。

## 1.7 统计分析

数据经 Excel 2003 整理后, 用平均值 ± 标准差表示。采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析, 以 Duncan 氏法作多重比较, 以  $P < 0.05$  作为差异显著性判断标准。

## 2 结果

### 2.1 体外 SARA 模型的评价

由表 1 中 I 组的 pH 数据可知, 12、24 h 时的 pH 分别为 5.30 和 5.03, 均在 SARA 病理的 pH 范围 (5.0 ~ 5.5) 内, 说明 SARA 持续时间至少超过 12 h。

表 1 PPPE 对发酵液 pH 的影响

Table 1 Effects of PPPE on pH of fermentation broth

时间 Time/h	I 组 Group I	II 组 Group II	III 组 Group III
0	6.86 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.86 ± 0.01 <sup>a</sup>	6.86 ± 0.01 <sup>a</sup>
6	5.68 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.83 ± 0.00 <sup>a</sup>	5.65 ± 0.01 <sup>c</sup>
12	5.30 ± 0.03 <sup>b</sup>	5.44 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.34 ± 0.01 <sup>b</sup>
18	5.14 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.26 ± 0.05 <sup>a</sup>	5.14 ± 0.03 <sup>b</sup>
24	5.03 ± 0.03 <sup>b</sup>	5.13 ± 0.03 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.02 <sup>a</sup>
36	4.92 ± 0.01 <sup>b</sup>	4.95 ± 0.03 <sup>ab</sup>	4.99 ± 0.04 <sup>a</sup>

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。表 2 和表 4 同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ). The same as Table 2 and Table 4.

### 2.2 PPPE 对发酵液 pH 的影响

由表 1 可知, 随发酵时间的延长, 各组发酵液的 pH 逐渐下降, 添加 PPPE 有减缓 pH 下降的趋势。II 组在 6、12、18、24 h 时显著高于 I 组 ( $P < 0.05$ ), 在 36 h 时 2 组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); III 组在 6 h 时显著低于 I 组 ( $P < 0.05$ ), 在 24、36 h 时显著高于 I 组 ( $P < 0.05$ ), 在 12、18 h 时 2 组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。添加 PPPE 的 2 组 (II、III 组) 相比可知, II 组在 6、12、18 h 时显著高于 III 组 ( $P < 0.05$ ), 在 24、36 h 时 2 组差异不显著 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 PPPE 对发酵液中内毒素和组胺含量的影响

由表 2 可知, 随发酵时间的延长, 各组发酵液中内毒素和组胺含量均逐渐升高, 添加 PPPE 有降低内毒素和组胺含量的趋势, 且呈现剂量效应。II 和 III 组的内毒素含量在各时间点均显著低于 I 组 ( $P < 0.05$ )。添加 PPPE 的 2 组相比可知, III 组的内毒素含量在各时间点均显著低于 II 组 ( $P < 0.05$ )。各组发酵液中组胺含量也呈现与内毒素一致的规律。

### 2.4 PPPE 对发酵液中各 VFA 含量的影响

由表 3 可知, 添加 PPPE 的 2 组发酵液中各 VFA 含量较未添加组 (I 组) 均有不同程度地降

低。乙酸含量:Ⅱ组在除 24 h 外的其余各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在 18、24 h 时显著低于Ⅱ组( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异( $P > 0.05$ )。丙酸含量:Ⅱ组在除 18、24 h 外的其余各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在 18、24 h 时显著低于Ⅱ组( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异( $P > 0.05$ )。丁酸含量:Ⅱ组在除 6、24 h 外的其余各时间点均显著低于 I 组

( $P < 0.05$ );Ⅲ组在各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在 24 h 时显著低于Ⅱ组( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异( $P > 0.05$ )。总 VFA(TVFA)含量:Ⅱ组在除 18、24 h 外的其余各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在各时间点均显著低于 I 组( $P < 0.05$ );Ⅲ组在 18、24 h 时显著低于Ⅱ组( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异( $P > 0.05$ )。乙酸/丙酸:除在 24 h 时Ⅲ组显著高于Ⅱ组外( $P < 0.05$ ),在其余各时间点各组间均无显著差异( $P > 0.05$ )。

表 2 PPPE 对发酵液中内毒素和组胺含量的影响

Table 2 Effects of PPPE on endotoxin and histamine contents in fermentation broth

时间 Time/h	内毒素 Endotoxin/(EU/L)			组胺 Histamine/( $\mu\text{g/L}$ )		
	I 组	II 组	III 组	I 组	II 组	III 组
	Group I	Group II	Group III	Group I	Group II	Group III
6	140.54 $\pm$ 0.73 <sup>a</sup>	97.17 $\pm$ 1.31 <sup>b</sup>	83.09 $\pm$ 1.58 <sup>c</sup>	35.78 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	24.11 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>	20.35 $\pm$ 0.29 <sup>c</sup>
12	144.38 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	100.53 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>	87.99 $\pm$ 1.06 <sup>c</sup>	36.84 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	24.76 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	21.76 $\pm$ 0.23 <sup>c</sup>
18	149.49 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>	106.38 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>	93.56 $\pm$ 0.91 <sup>c</sup>	37.97 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	26.14 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	23.07 $\pm$ 0.15 <sup>c</sup>
24	153.79 $\pm$ 0.33 <sup>a</sup>	110.35 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	98.56 $\pm$ 0.75 <sup>c</sup>	39.37 $\pm$ 0.23 <sup>a</sup>	27.41 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	24.26 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>
36	158.85 $\pm$ 1.21 <sup>a</sup>	116.30 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>	102.98 $\pm$ 0.70 <sup>c</sup>	40.48 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>	29.00 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	25.60 $\pm$ 0.26 <sup>c</sup>

表 3 PPPE 对发酵液中各 VFA 含量的影响

Table 3 Effects of PPPE on VFA contents in fermentation broth

mmol/L

项目 Items	组别 Groups	时间 Time/h				
		6	12	18	24	36
乙酸 Acetate	I	8.84 $\pm$ 1.83 <sup>a</sup>	11.03 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>	9.39 $\pm$ 0.81 <sup>a</sup>	11.52 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	11.33 $\pm$ 1.41 <sup>a</sup>
	II	6.14 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	6.67 $\pm$ 1.11 <sup>b</sup>	7.64 $\pm$ 0.64 <sup>b</sup>	11.50 $\pm$ 1.48 <sup>a</sup>	6.87 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>
	III	6.03 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	4.61 $\pm$ 0.60 <sup>b</sup>	4.64 $\pm$ 0.99 <sup>c</sup>	6.34 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	6.92 $\pm$ 1.50 <sup>b</sup>
丙酸 Propionate	I	4.23 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>	5.07 $\pm$ 0.75 <sup>a</sup>	4.16 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	5.37 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	5.17 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>
	II	2.83 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	2.98 $\pm$ 0.47 <sup>b</sup>	3.41 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	5.50 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>	3.07 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>
	III	2.74 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>	2.02 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup>	2.05 $\pm$ 0.46 <sup>b</sup>	2.81 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	2.99 $\pm$ 0.66 <sup>b</sup>
丁酸 Butyrate	I	0.98 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	1.31 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	1.29 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.88 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	2.36 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>
	II	0.78 $\pm$ 0.10 <sup>ab</sup>	0.82 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	0.94 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.70 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
	III	0.56 $\pm$ 0.15 <sup>b</sup>	0.56 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	0.69 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	1.13 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.45 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>
总 VFA TVFA	I	13.89 $\pm$ 2.81 <sup>a</sup>	17.42 $\pm$ 2.17 <sup>a</sup>	14.85 $\pm$ 1.11 <sup>a</sup>	18.77 $\pm$ 1.91 <sup>a</sup>	18.86 $\pm$ 2.25 <sup>a</sup>
	II	9.74 $\pm$ 1.17 <sup>b</sup>	10.47 $\pm$ 1.68 <sup>b</sup>	12.00 $\pm$ 0.95 <sup>a</sup>	18.71 $\pm$ 2.46 <sup>a</sup>	11.32 $\pm$ 0.74 <sup>b</sup>
	III	9.33 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>	7.19 $\pm$ 0.96 <sup>b</sup>	7.39 $\pm$ 1.54 <sup>b</sup>	10.29 $\pm$ 0.65 <sup>b</sup>	11.37 $\pm$ 2.47 <sup>b</sup>
乙酸/丙酸 Acetate/propionate	I	2.10 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.22 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	2.25 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	2.15 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	2.20 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>
	II	2.18 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	2.23 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.24 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	2.11 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	2.24 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
	III	2.23 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	2.29 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	2.28 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	2.25 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	2.34 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>

同一项目中,同列数据肩标不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

In the same item, values in the same column with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.5 PPPE 对发酵液中乳酸和牛链球菌含量的影响

由表 4 可知,添加 PPPE 对发酵液中乳酸和牛链球菌含量的影响变化趋势不明显,但在部分时间点乳酸和牛链球菌含量有一定的相关性。乳酸含量:Ⅱ组在 18、24 h 时显著低于 I 组 ( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异 ( $P > 0.05$ );Ⅲ组在各时间点均显著低于 I 组 ( $P <$

0.05);Ⅲ组在 6、36 h 时显著低于Ⅱ组 ( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。牛链球菌含量:Ⅱ组在除 6、12 h 外的各时间点均显著低于 I 组 ( $P < 0.05$ );Ⅲ组在除 12 h 外的各时间点均显著低于 I 组 ( $P < 0.05$ );Ⅲ组在 6 h 时显著低于Ⅱ组 ( $P < 0.05$ ),在其余各时间点 2 组间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 4 PPPE 对发酵液中乳酸和牛链球菌含量的影响

Table 4 Effects of PPPE on lactate and *S. bovis* contents in fermentation broth

时间 Time/h	乳酸 Lactate/(mmol/L)			牛链球菌 <i>S. bovis</i> /%		
	I 组 Group I	Ⅱ组 Group II	Ⅲ组 Group III	I 组 Group I	Ⅱ组 Group II	Ⅲ组 Group III
6	0.16 ± 0.00 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.40 ± 0.09 <sup>ab</sup>	0.99 ± 0.46 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.02 <sup>b</sup>
12	0.21 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.14 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.13 <sup>a</sup>
18	0.22 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.16 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.03 <sup>b</sup>
24	0.20 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.09 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.40 ± 1.52 <sup>a</sup>	0.61 ± 0.13 <sup>b</sup>	0.40 ± 0.16 <sup>b</sup>
36	0.27 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.36 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.04 <sup>b</sup>	1.75 ± 0.84 <sup>a</sup>	0.74 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.06 <sup>b</sup>

## 3 讨论

### 3.1 体外 SARA 模型的评价

反刍动物采食量下降通常发生在瘤胃 pH 低于 5.5 以后,而 pH 低于 5.0 则已发生急性酸中毒,pH 在 5.0 ~ 5.5 的持续时间则反映 SARA 的严重程度<sup>[11]</sup>。体外法作为简化的瘤胃模型是饲料营养价值和瘤胃调控作用评价的常用技术。本试验的 SARA 模型是在对风干玉米、鲜白酒糟的不同比例和总量筛选的基础上得出的,pH 在 5.0 ~ 5.5 持续时间超过 12 h,说明本研究成功建立了体外 SARA 模型。

### 3.2 PPPE 对 SARA 的缓解效果

SARA 发生后 pH 偏低,导致大量的革兰氏阴性菌死亡、崩解,释放出内毒素,还促使组氨酸脱羧形成组胺。积累的大量 VFA 与内毒素、组胺三者共同作用加剧了瘤胃壁的损伤和解毒屏障的破坏,毒素入血引发一系列病症<sup>[3-4]</sup>。本研究中,添加 PPPE 减缓了 pH 下降,从而减少了一部分不耐酸革兰氏阴性菌的死亡,降低了内毒素的释放量;同时,一定程度上也抑制了耐酸的组胺产生菌的活动,使得组胺的生成量降低,并呈现剂量效应。这说明 PPPE 能显著降低 SARA 的毒害作用。从 pH 来看,Ⅱ组要优于Ⅲ组,其原因可能与Ⅲ组多

酚类物质较多有关,部分多酚类物质经微生物降解的酸性产物掩盖了多酚抑制 VFA 产生的贡献。另外,各组 pH 与总 VFA 含量的变化规律不完全一致,造成上述现象的原因推测有以下 3 种:一是发酵期间样液中产生的少量乳酸对 pH 存在影响;二是添加 PPPE 的组中多酚物质的酸碱特性及其部分被降解的产物对 pH 存在影响;三是试验误差,包括气相色谱测定 VFA 时手动进样的不稳定和多酚物质经微生物降解的小分子产物对 VFA 测定结果的干扰。

### 3.3 PPPE 对发酵产酸的抑制作用

本研究表明,PPPE 能够抑制瘤胃微生物的产酸能力,且呈现剂量效应。随 PPPE 添加量的增加,乙酸/丙酸基本呈升高的趋势,说明该提取物对于产生丙酸的抑制程度更强。整个试验期内各组乳酸含量均较低,各组的平均含量均在 0.2 mmol/L 左右,而 H<sup>+</sup> 另一来源就是 VFA,各组试验期内总 VFA 的平均含量均在 10 mmol/L 以上,考虑到乳酸的酸度是 VFA 酸度的 10 倍,则 0.2 mmol/L 的乳酸相当于 2 mmol/L 的 VFA,因此乳酸对 pH 下降的贡献只有不到 1/6,说明 SARA 状态 pH 的降低主要由产生的 VFA 造成。牛链球菌是主要的乳酸产生菌之一,添加 PPPE 的组的乳酸含量伴随着牛链球菌含量的下降而降

低,表明 PPPE 是通过抑制牛链球菌的生长来抑制乳酸的产生。由此可知,PPPE 是通过抑制微生物对底物的发酵实现产酸速率的降低,该结果与 Valentina 等<sup>[12]</sup>的研究结果一致。多酚抑制微生物产酸能力的机制可能有以下 3 种:一是通过抑制微生物的氧化磷酸化,影响微生物代谢;二是多酚与微生物外源酶结合,抑制底物的降解;三是多酚与底物结合,形成保护作用<sup>[13]</sup>。

#### 4 结 论

在本试验条件下,PPPE 可降低发酵液中各 VFA、内毒素、组胺含量,对 SARA 有一定的缓解作用,且以 4.5% 的添加量效果较好。

#### 参考文献:

- [ 1 ] BEAUCHEMIN K A. Ruminant acidosis in dairy cows: balancing physically effective fiber with starch availability[C]//Institute of food and agricultural sciences: proceedings of the 18th florida ruminant nutrition symposium. Gainesville: IFAS, 2007:16 - 27.
- [ 2 ] DARREN W B. Effect of the number of step-up diets fed during grain adaptation on acidosis and feeding behaviour of feedlot cattle[D]. Master thesis. Saskatoon; University of Saskatchewan, 2005.
- [ 3 ] ASCHENBACH J R, GABEL G. Effect and absorption of histamine in sheep rumen: significance of acidotic epithelial damage[J]. Journal Animal Science, 2000, 78:464 - 470.
- [ 4 ] KHAFIPOUR E, KRAUSE D O, PLAIZIER J C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation[J]. Journal Dairy Science, 2008, 92:1060 - 1070.
- [ 5 ] BADI M T, CHAJI M, ESLAMI M, et al. The evaluation of the effect of tannin of oak leave on *in vitro* rumen fermentation of soybean meal[J]. Research Journal of Biological Sciences, 2009, 4(11):1190 - 1192.
- [ 6 ] NJIDDA A A. *In vitro* gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and *in vitro* gas production of semi-arid browses of north-eastern Nigeria[J]. Global Veterinaria, 2010, 4(3): 292 - 298.
- [ 7 ] BADI M T, CHAJI M, TABATABAEI S. The effect of tannic acid on *in vitro* gas production and rumen fermentation of sunflower meal[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2010, 9(2):277 - 280.
- [ 8 ] MENKE K H, STEINGASS H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid[J]. Animal Research Development, 1988, 28:7 - 55.
- [ 9 ] 丁学智,龙瑞军,淡瑞芳,等. 瘤胃发酵液挥发性脂肪酸的气相色谱分析方法[J]. 甘肃农业大学学报, 2006,4(2):24 - 26.
- [ 10 ] EHSAN K, LI S C, JAN C P, et al. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(22):7115 - 7124.
- [ 11 ] OETZEL G R. Introduction to ruminal acidosis in dairy cattle[C]//Proceedings of the 34th annual convention of American association of bovine practitioners. Columbus: AABP, 2001:15 - 17.
- [ 12 ] VALENTINA V, HARINDER P S, MARCELLO M, et al. Ruminal biohydrogenation as affected by tannins *in vitro* [J]. British Journal of Nutrition, 2009, 102:82 - 92.
- [ 13 ] GETACHEW G, PITTROFF W, DEPETERS E J, et al. Influence of tannic acid application on alfalfa hay: *in vitro* rumen fermentation, serum metabolites and nitrogen balance in sheep[J]. Animal, 2008, 2(3): 381 - 390.

## Protective Effects of Pomegranate Peel Polyphenol Extract against Related Harmful Factors of Subacute Ruminal Acidosis

DU Yu WANG Zhisheng\* DONG Lifeng

(*Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China*)

**Abstract:** This study established a *in vitro* subacute ruminal acidosis (SARA) model to evaluate the effects of different supplemental levels of pomegranate peel polyphenols extract (PPPE) on related harmful factors of subacute ruminal acidosis. Single factor design was used for the trial, and 3 supplemental levels of PPPE were design, which were 0, 4.5% and 9.0% of fermentation substrate, respectively. Each supplemental level had 5 replicates. The results showed as follows: with prolonged fermentation time, the pH of fermentation broth was gradually decreased. The PPPE supplementation could retard the pH decreased, and the pH of fermentation broth at the 6th, 12th and 18th h in the group containing 4.5% PPPE was significantly higher than that in the group containing 9.0% PPPE ( $P < 0.05$ ). The contents of endotoxin and histamine in the fermentation broth were significantly decreased by PPPE supplementation ( $P < 0.05$ ), and showed a dose-dependant effect. After supplemented PPPE, the volatile fatty acid contents were all decreased to different extent, and significant effects were found in some time points ( $P < 0.05$ ). The results indicate that PPPE supplementation can effectively relieve SARA, and the 4.5% supplemental level has a better effect. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2011, 23(11):2031-2036]

**Key words:** pomegranate peel polyphenol extract; subacute ruminal acidosis; *in vitro* fermentation