

אבקת קליפות רימונים כתוסף בתחליף החלב: ההשפעה על עקת

הגמילה וההשלכות על כשרות הבשר בעגלי הולשטיין

Pomegranate peel powder as a supplement in milk replacer: Influence on weaning stress and implications on Kosher status of the meat.

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות

ע"י

אריאל שבתאי	מינהל המחקר החקלאי	נוה יער
זהר כרם	הפקולטה לחקלאות	רחובות
יעקב ויה	מיג"ל	קריית שמונה

הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים : כן / לא

חתימת החוקר

תקציר

התעשיות הנלוות לגידולי הרימון מותרות, לאחר עיבוד מוצרי מזון מהפרי, כמויות גבוהות של פסולת חקלאית עשירה בפנולים וקשה למחזור. נכון להיום, קליפות רימון הן בגדר משאב טבעי לא מנוצל. לקליפות הרימון פוטנציאל הזנתי ובריאותי גדול בהזנת בקר, בשל ההרכב הכימי ונוגדי החמצון שבהן. מחקרים אחרונים הראו כי הפעילות נוגדת החמצון של קליפות רימונים גבוהה לאין שיעור מהפעילות של גרגרי הפרי. חומרים נוגדי חמצון ידועים בהשפעתם המיטיבה על מניעה והקטנה של התפתחות מחלות בבקר בפרט וביונקים בכלל. המחלה השכיחה והכלכלית ביותר בקרב עגלי מפטמה היא קומפלקס מחלות הנשימה (Bovine respiratory disease complex; BRD). ידוע הקשר הנסיבתי שבין התפתחות עקה חמצונית ותחלואה ב-BRD. תכנית המחקר בקשה לבחון, בטווח הקצר, האם לתוספת של אבקת קליפות רימון מזן "Wonderful" לתחליף החלב, היכולת למנוע את העקה החמצונית הכרוכה בגמילה, ואת הביטויים הפרו-דלקתי. בטווח הארוך, נבחן האפקט המניעתי של הקליפות כתוסף מזוני על הורדת התחלואה בדלקת ריאות ובהגברת קצב הגידול והכשרות של העגלים. תוצאות שנה א' שופכות אור על התועלת, בטווח הקצר, שיש להוספת אבקת רימונים לתחליף החלב ולבליל של עגלי הולשטיין יונקים

במניעת העקה החמצונית המתפתחת לאחר הגמילה. בשנה ב' של המחקר החלפנו את האבקה במיצוי מימי של קליפות רימון, אותו נתנו עד שלב הגמילה. לאורך תקופת הינקות מצאנו השפעה מטיבה של מיצוי קליפות הרימון על בריאות העגל, כמו גם על שיפור הפוטנציאל נוגד החמצון של הפלסמה יום לאחר הגמילה, אולם יחד עם זאת (ואולי גם כתלות בסוג התוסף בו השתמשנו), אנו סבורים כי יש להמשיך ולתת את הקליפות גם תקופת זמן של מספר שבועות לאחר הגמילה. בשנה ג' המשכנו להשתמש במיצוי המימי של קליפות הרימון ונוכחנו, עדיין בטווח הקצר, כי התוסף אמנם ממתן את אירועי העקה הכללית של הגמילה, אך אין לו השפעה על התפתחות מצבים דלקתיים. בטווח הארוך, לא נמצאה השפעה מטיבה על כשרות הבשר או על איכות הטבחה. ייתכן כי הסיבה לכך היא התחלת מתן המיצוי בגיל מאוחר יחסית (14 יום).

מבוא

10000 דונם של מטעי רימון קיימים היום בארץ, ומתוכם כ- 6500 דונם כבר נושאים פרי. התנובה של שטחים אלה צפויה להגיע בעוד שנתיים ל- 25000 טון פרי בשנה. כ- 1600 טון של פרי מיועד כיום ליצוא, כשמתוכם כ- 600 טון הם פרי פרוט (גרגרים). רב הרימונים נמכרים היום בשווקים כפרי טרי, ופחות מ- 10% הם רימונים שנפרטים לתעשיות המיץ והיין. אולם, הכמות השנתית של פרי פרוט עשויה לגדול בשנים הקרובות בגלל שלושה תהליכים: א. הביקוש הגדל והולך לפרי הרימון בארץ ובחו"ל, עקב המחקרים המתרבים, המדווחים על סגולותיו הרפואיות, מעודד חקלאים לטעת רימונים בשטחים נוספים. ב. ההבנה בקרב יצרנים של הקושי (הפסיכולוגי) אצל הצרכן בהכנת הפרי הטרי למאכל. ג. הכוונה של יצרני פירות מקולפים לייבא מהודו רימונים, שלא בעונת הגידול בארץ. ד. פיתוח של יכולת מיכנית לקלף רימונים בכמויות גדולות בזמן קצר ובאיכות גבוהה. בשל העובדות שהוזכרו לעיל, כמות קליפות הרימון עשויה לגדול מ 400 טון לשנה (הערכה עכשווית של מקלפי הפירות).

לקליפות הרימון אין, לעת עתה, ייעוד חקלאי. ממצאים ראשוניים מדווחים כי גם בקליפות הרימון קיימים, לפחות באופן חלקי, חומרי טבע בעלי פעילות ביולוגית רצויה, כמו טאנינים פריקים (hydrolyzable) ומעובים (condensed), חומצה אלגית וחומרים נוגדי חמצון אחרים (Gil et al., 2000; Tzulker et al., 2007).

בשל יכולתם לקשור חלבונים, לטאנינים מעובים (condensed), בריכוזים לא גבוהים (2-4% חומר יבש), ידועה השפעה חיובית על מטבוליזם החלבון של מעלי גירה. פעילותם זו מאטה את פרוק החלבון הנעכל בכרס לאמוניה, ע"י חיידקים, ומגדילה את יציאת החלבון השלם מהכרס, ואת זמינותן של חומצות אמינו לספיגה במעי הדק (Min et al., 2002). כתוצאה מכך, הוגברה התחלובה והוגדלה תוספת המשקל, ללא שינוי בצריכת המזון (Aerts et al., 1999).

בנוסף לכך, לטאנינים נודעת תרומה לבריאות מעלי גירה באמצעות דחייה ועיכוב של פעילות חיידקית, פטרייתית וטפילית (Kahn and Diaz-Hernandez, 2000).

חומרים נוגדי חמצון ידועים בהשפעתם המיטיבה על מניעה והקטנה של התפתחות מחלות בבקר בפרט וביונקים בכלל. כך למשל, הוספת ויטמין E למנה של עגלי פיתום הורידה את מקרי התחלואה של עגלים

בדלקות ריאות ביותר מ 20%, תוך שיפור ביצועי הגדילה שלהם (Chirase et al., 2004), ושימוש בפלבנואידים עכב חמצון של LDL (Vaya et al., 2003). מגדלי צאן ובקר שהזינו את עדריהם בקליפות רימונים לא דווחו על אפקטים שליליים; יתרה מזאת, הדיווחים מצביעים על בחירת הקליפות מתוך המנה.

במהלך שנת 2008 בחננו את ההשפעה של קליפות רימון טריות כתוסף מזון לעגלי פיטום על צריכת המזון שלהם, תוספת המשקל היומית הממוצעת, ריכוז ויטמין E בפלסמה והפוטנציאל נוגד החמצון שלה (Shabtay et al., 2008). מהתוצאות עולה כי העגלים בוחרים לאכול קליפות טריות עד 20% מצריכת המזון היומית הממוצעת שלהם (על בסיס חומר יבש), מוסיפים יותר למשקל גופם וצוברים ויטמין E בפלסמה. מכיוון שהרימון הוא גידול עונתי, בחננו באותו מאמר את ההשפעה של שיטות שימור שונות על ריכוזם של חומרי בריאות שונים בקליפות. לא נמצא הפסד ניכר של החומרים השונים בשיטות השימור השונות ולכן, בחרנו, במחקר הנוכחי לבחון את השפעת ההוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל של עגלים יונקים על עקת הגמילה. עקת הגמילה היא אחד מגורמי העקה המרכזיים המובילים להתפתחות של דלקת ריאות בעגלים צעירים.

מטרות המחקר: לבחון האם הוספה של אבקת קליפות רימון לתחליף החלב ולבליל תמתן את עקת החמצון כתוצאה מתהליך הגמילה.

הערה: מאחר ועלות ההכנה של אבקת קליפות רימון מורכבת וגבוהה, ומאחר ובינתיים פותח רכז מסחרי של קליפות רימון שעלויותיו שוליות בשלב זה, השתמשנו בשנים ב' וג' ברכז רימונים.

שיטות וחומרים

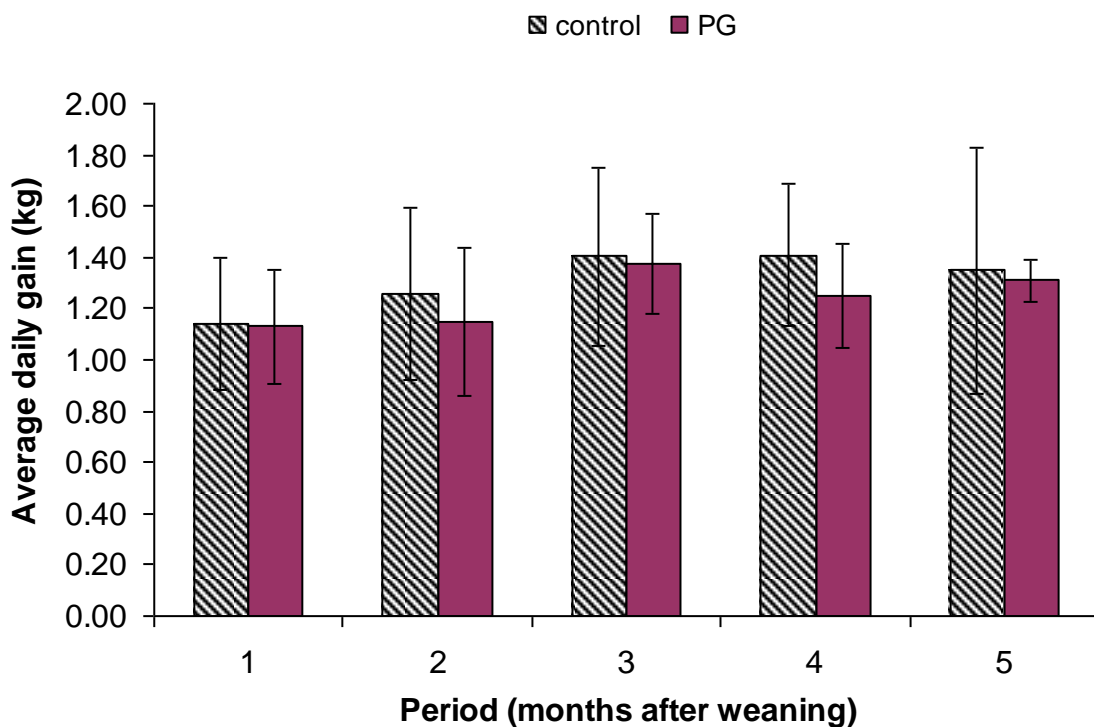
בשנה א' קליפות רימונים יובשו ב 60°C ונטחנו לאבקה (60 mesh). האבקה ניתנה לשישה עגלים יונקים בחלב (קבוצת הניסוי), במינון של 50 גרם לליטר, פעם אחת ביום, שבוע לפני הגמילה. עגלי הביקורת ($n=6$) זכו לקבל ליטר אחד של חלב (ללא תוספות) במהלך אותו שבוע. לאחר הגמילה, העגלים הועברו לתאים אחרים, וקבוצת הניסוי קבלה אבקת רימונים בבליל במינון של 90 גרם לק"ג בליל, במשך חודשיים. העגלים נשקלו אחת לשבועיים, נאספו שאריות מזון וצואה לאנליזות עתידיות של צריכת מזון ונעכלות. במועדים שונים וקבועים נדגם דם מכל העגלים לאנליזה של גנים שונים בתאים של מערכת החיסון, וכן לבדיקה ביוכימית של התפתחות עקה חמצונית בעקבות הגמילה. בשנה ב' השתמשנו, כאמור, ברכז קליפות רימונים. מיצוי קליפות רימון התקבל מחברת תעשיות גן שמואל. 40 עגלי הולשטיין שהועברו בגיל 7-14 יום מרפת בית דגן השתתפו בניסוי. המיצוי ניתן לעשרים עגלים במינון של 50 גרם לליטר, פעמיים ביום, בבקבוקים אינדיבידואליים, יום לאחר הגעתם ליונקיה בנוה יער. עשרים עגלי הביקורת קבלו את אותה כמות חלב בבקבוקים, ללא תוספת מיצוי הרימונים. בנוסף, הוקצתה מכסת חלב יומית לכל עגל ונרשמו קצב היניקה וכמות החלב שכל עגל שתה. כמו כן, נערכה ביקורת תחלואה יומיומית. לאחר הגמילה, העגלים הועברו לתאים אחרים. במועדים שונים וקבועים, לפני ואחרי הגמילה

נדגם דם מכל העגלים לבדיקה ביוכימית של התפתחות עקה בעקבות הגמילה. בגיל 12-14 חודשים הועברו העגלים לבית המטבחים לצורך קביעת פנוטיפ הכשרות ואיכות הטבחה.

תוצאות + דיון

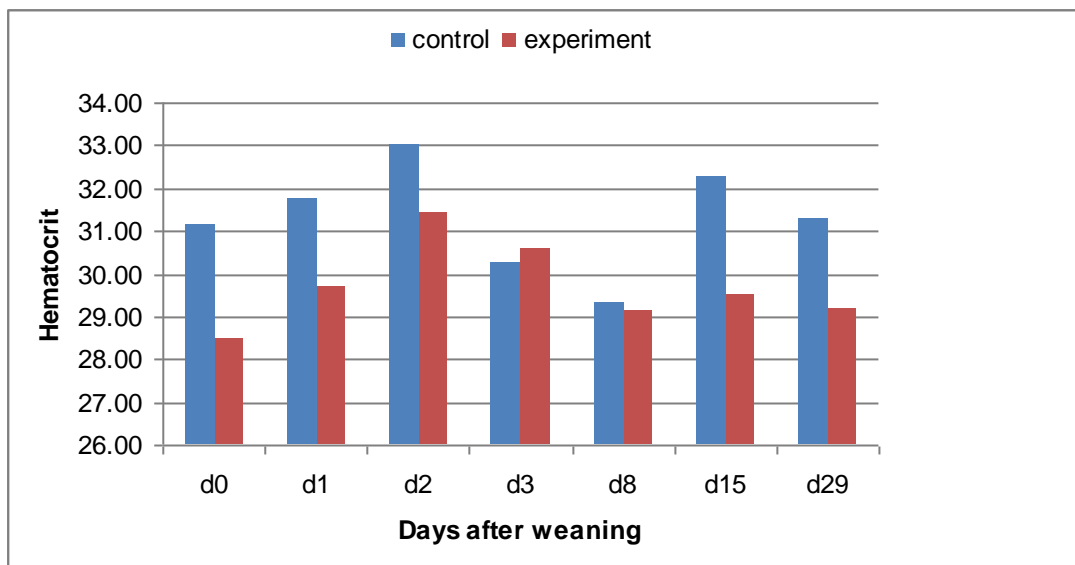
שנה א'

באיור 1 ניתן לראות את השפעת ההוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל על תוספת המשקל היומית הממוצעת של עגלים מספר חודשים לאחר הגמילה. הגם שברכיכוז של אבקת רימונים שניתן בבליל (9% על בסיס חומר יבש) היו עגלים שניכר כי אכלו פחות, באופן קבוצתי לא הייתה השפעה לרעה על תוספת המשקל היומית הממוצעת. למרות זאת אחת המסקנות המתבקשות מפרק זה של הניסוי היא כי יש להוריד את ריכוז אבקת הקליפות במנה ל 5-7%.



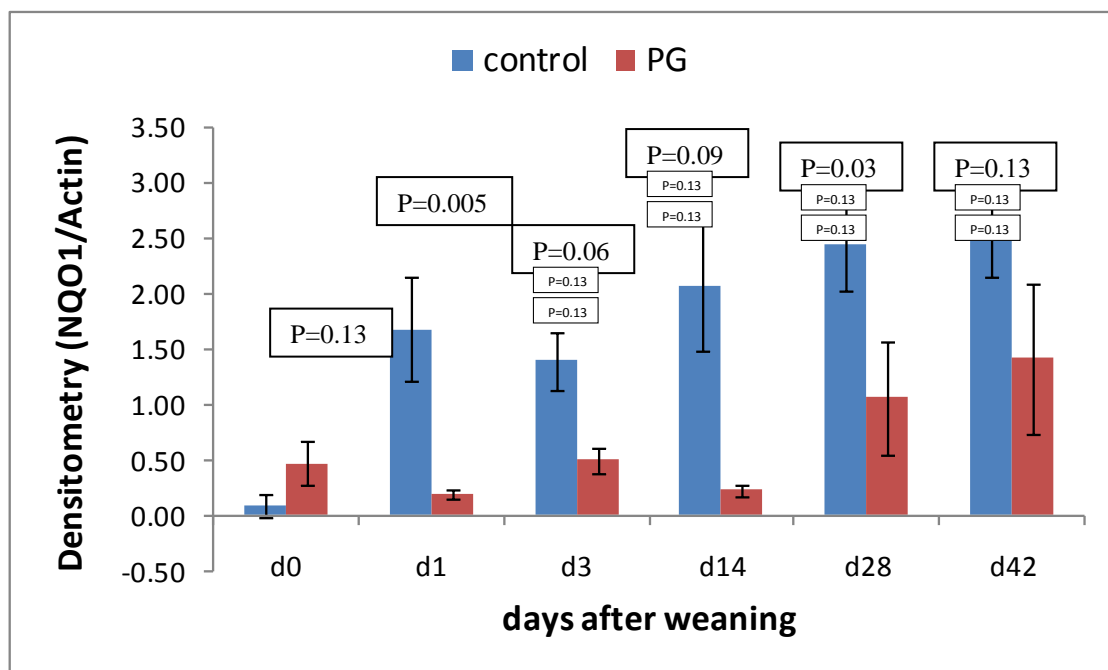
איור 1: השפעת הוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל על תוספת המשקל היומית הממוצעת של עגלים מספר חודשים לאחר הגמילה. התוצאות מוצגות כממוצעים \pm סטיות תקן. PG - קבוצת העגלים שקבלו אבקת הרימונים.

באיור 2 מתוארת השפעת אכילת אבקת קליפות רימונים על רמת ההמטוקריט (תאי דם ביחס לנוזל הדם) של העגלים. ניתן לראות כי לעגלים שאכלו אבקת קליפות רמת המטוקריט נמוכה משל עגלי הביקורת, אולם הרמה הייתה נמוכה עוד לפני תחילת הניסוי (d0), ולכן, למרות שיש לנו אינדיקציות מניסויים קודמים כי אכילה של קליפות יכולה להקטין את כמות התאים האדומים, לא ניתן להסיק מכך על הניסוי הנוכחי. יחד עם זאת, אנו סבורים שהורדת מינון האבקה בבליל תשפיע לטובה גם על מדד ההמטוקריט.



איור 2: השפעת הוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל על רמת ההמטוקריט של העגלים.

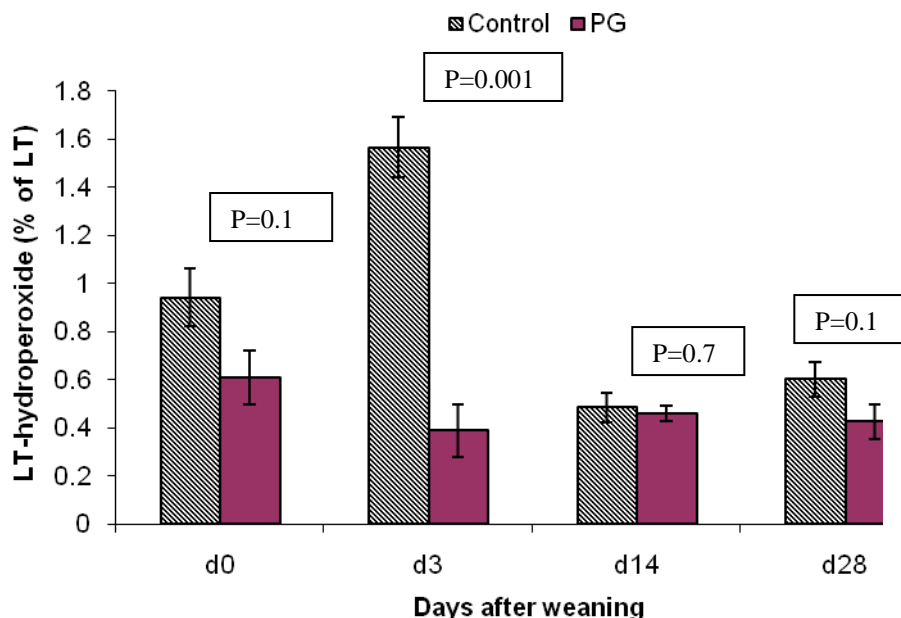
עדות להשפעת מתן אבקת קליפות רימונים על מיתון עקת החמצון בה מצויים עגלים בעקבות הגמילה מופיעה באיור 3. האנזים NQO1 שייך למשפחת ה phase 2 enzymes. משפחת אנזימים זאת מופעלת בנוכחות רדיקלים חופשיים כדי לנטרל אותם ובכך למנוע את נזקי עקת החמצון.



איור 3: השפעת הוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל על רמת הביטוי של האנזים PG-NQO1 - קבוצת העגלים שקבלו אבקת הרימונים. מובהקות התוצאות בהשוואת קבוצת הביקורת לרימונים, בכל מועד דיגום, מופיעה מעל העמודות.

ניכר כי בעקבות הגמילה עולה כמות הרדיקלים החופשיים בגוף העגל, אולם בעגלים שאכלו אבקת קליפות רימונים העלייה מתונה יותר. סביר להניח כי העלייה בביטוי האנזים, שנמשכת גם 28 ו 42 יום אחרי הגמילה, נובעת בתקופת זמן זאת מהעלייה במטבוליזם של העגל. ידוע כי מטבוליזם מוגבר גורם ליצירה גדולה יותר של רדיקלים חופשיים, שגם את הייצור שלהם ממתנות קליפות הרימונים.

בדיקה ביוכימית של התפתחות עקה חמצונית בעקבות הגמילה בוצעה בעזרת הסמן האקסוגני LT. מדובר במולקולה המורכבת מחומצה לינולאית והחומצה האמינית טירוזין הקשורות בקשר קובלנטי. רמת החמצון של הסמן לאחר הדגרתו עם דוגמאות דם מחושבת ע"פ אחוז התוצרים המחומצנים של הסמן. באיור 4 ניתן לראות תוצר חמצון אופייני של הסמן – LT-hydroperoxide. שלושה ימים לאחר הגמילה הרמה של LT-hydroperoxide יחסית לסמן LT עולה באופן מובהק בקבוצת הביקורת אך לא בקבוצת הרימונים, מה ששוב יכול להעיד על כך שתוספת אבקת רימונים לחלב ולבליל מנטרלת את עקת החמצון המלווה את הגמילה.



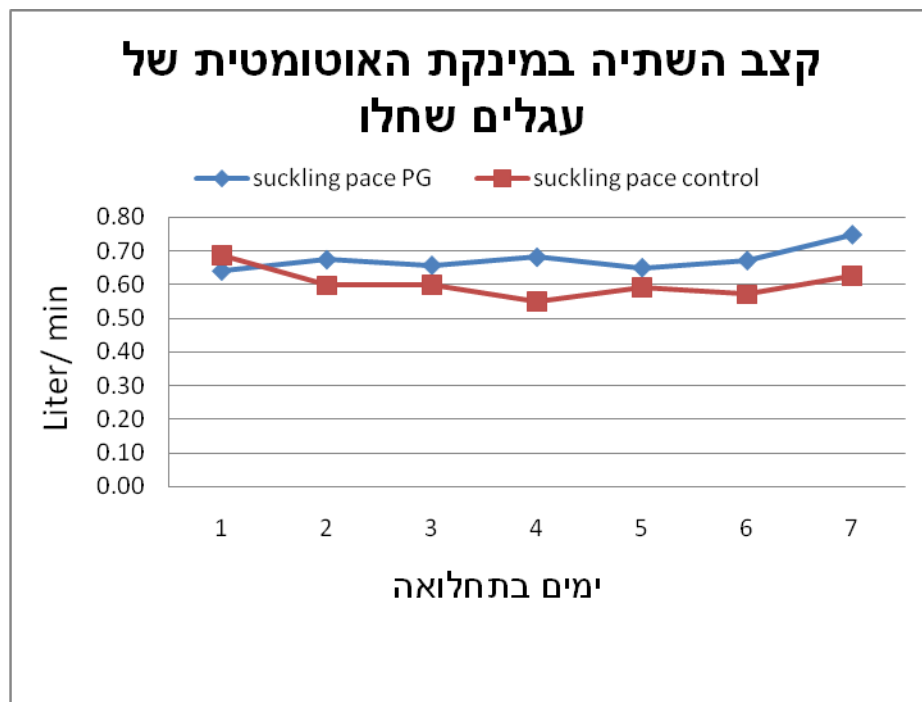
איור 4: השפעת הוספה של אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב ולבליל על רמת החמצון של הסמן LT. PG - קבוצת העגלים שקבלו אבקת הרימונים. מובהקות התוצאות בהשוואת קבוצת הביקורת לרימונים, בכל מועד דיגום, מופיעה מעל העמודות.

מסקנות שנה א'

התוצאות המובאות בדו"ח זה שופכות אור על התועלת, בטווח הקצר, שיש להוספת אבקת רימונים לתחליף החלב ולבליל של עגלי הולשטיין יונקים במניעת העקה החמצונית המתפתחת לאחר הגמילה. ידוע כי עקת חמצון בעגלים צעירים יכולה להוות זרז להתפתחות של מחלות נשימה ושהאחרונה קשורה בהגברת פסילת כשרות הבשר. צריך לבחון אם בטווח הארוך ניסוי כנ"ל ביותר עגלים יפחית את פסילת כשרות הבשר.

שנה ב'

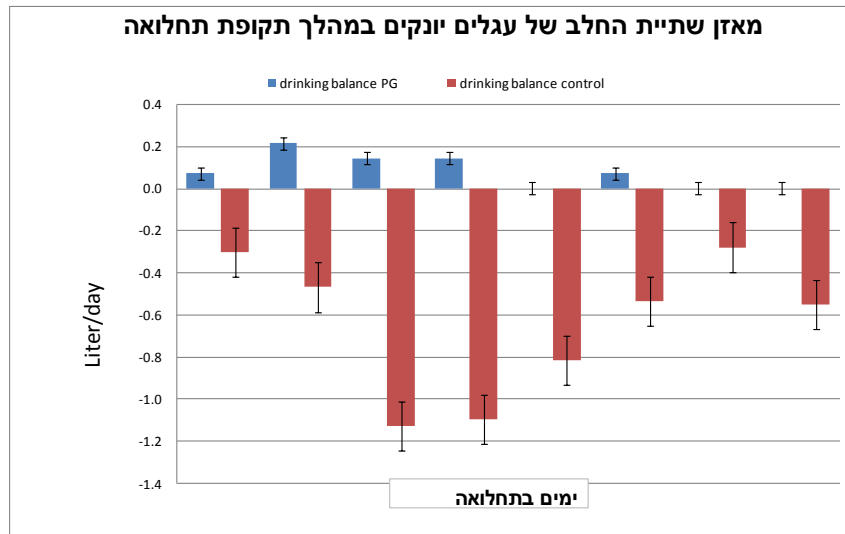
באיור 5 ניתן לראות את השפעת ההוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על קצב השתייה כפי שנמדד במינקת בעגלים שהיו חולים. ניתן לראות כי קצב השתייה של עגלים שקבלו את מיצוי הרימונים בתחליף החלב היה גבוה יותר, במשך כל ימי התחלואה. הבדלים אלה, למרות שלא היו מובהקים, מצביעים על יתרון אפשרי של מיצוי קליפות הרימון בייצוב מצבם הבריאותי של עגלים במהלך תחלואה.



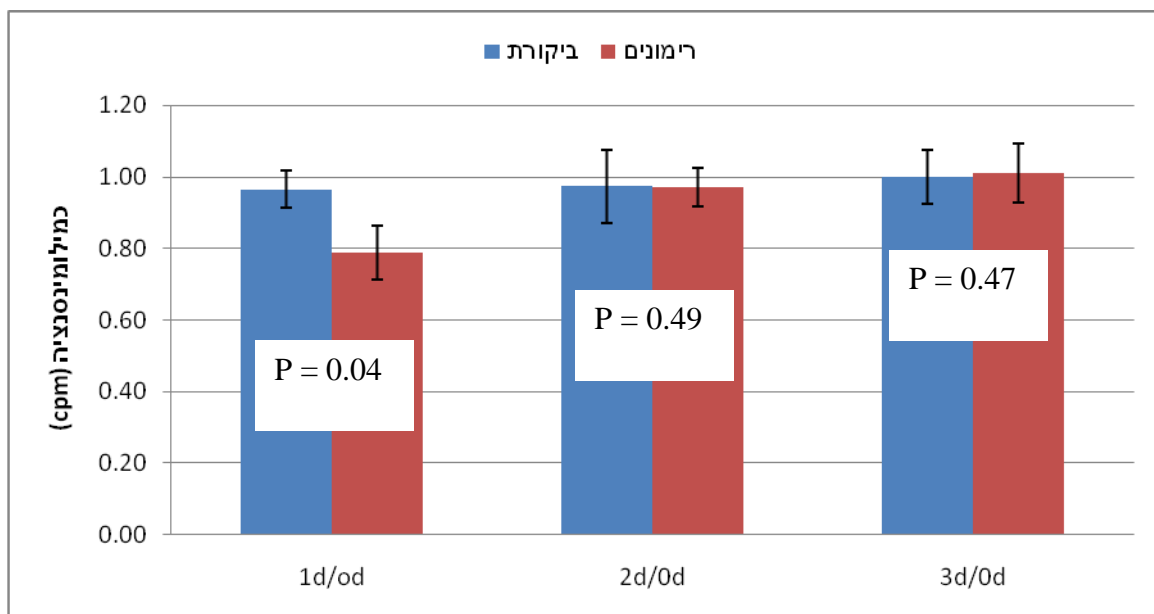
איור 5: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על קצב יניקת החלב בקרב עגלים שחלו – עגלי ביקורת בהשוואה לעגלים שקבלו את תוסף הרימונים. ניתן לראות שקצב היניקה של עגלי הרימונים במשך כל תקופת התחלואה היה גבוה יותר משל עגלי הביקורת.

באיור 6 מתוארת השפעת הוספת מיצוי קליפות רימונים על מאזן שתיית החלב של עגלים במהלך ימי התחלואה. למרות שגם כאן ברוב הימים, לא היו הבדלים מובהקים בין הקבוצות, קיימת מגמה ברורה

לאינדקציה של התמודדות טובה יותר עם המחלה, המתבטאת בכך שצריכת החלב של עגלי הרימון לא נפגעה.



איור 6: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על מאזן שתיית החלב של עגלי ביקורת ועגלים שקבלו תוסף מיצוי קליפות רימונים, בזמן התחלואה. ניתן לראות כי בעוד שעגלי הרימונים שמרו על מאזן שתייה חיובי במרבית ימי התחלואה, עגלי הביקורת היו במאזן שתייה שלילי.



איור 7: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על התפתחות עקה חמצונית בעקבות גמילה לערכים שהתקבלו לפני הגמילה (0d). בשיטת מדידה זאת, ערכים נמוכים יותר מציינים פוטנציאל נוגד חמצון גבוה יותר.

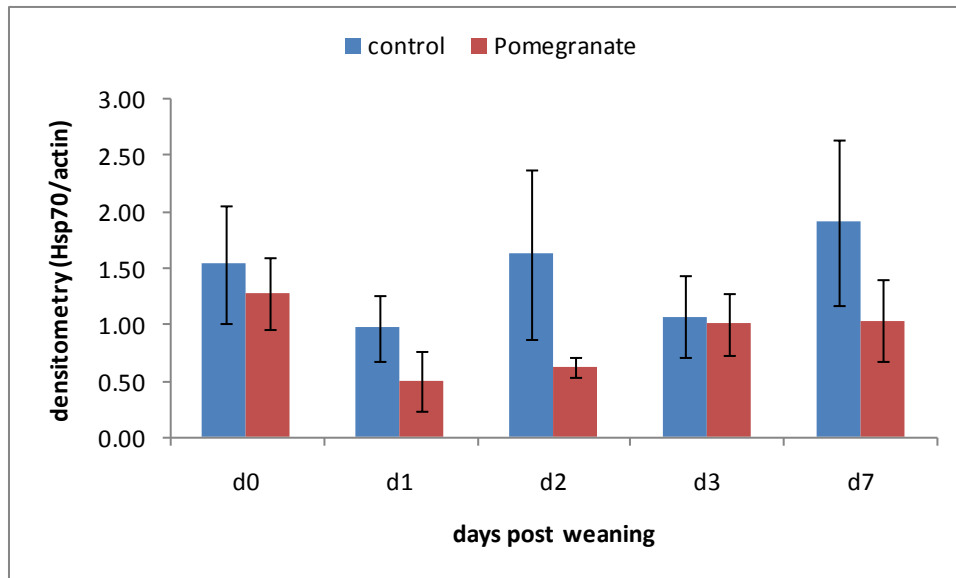
מהתוצאות של שנת המחקר הראשונה, בה הוספנו אבקת קליפות רימונים לתחליף החלב, שבוע לפני הגמילה וכן אבקת קליפות בבלייל – אחרי הגמילה, למדנו כי הגמילה גורמת לעקת חמצון שלושה ימים לאחר הגמילה, וכי אבקת הרימונים מונעת את העקה החמצונית בשלב זה. בשנה זאת בוצעו מספר שינויים: **א.** במקום אבקה השתמשנו במיצוי מימי. **ב.** המיצוי המימי ניתן רק עד הגמילה ולא אחריה. **ג.** התגובה נבדקה יום, יומיים ושלושה לאחר הגמילה. תוצאות שנה זאת המובאות באיור 7 מלמדות, כי כאשר ניתן המיצוי המימי עד שלב הגמילה, יש הקטנה של העקה החמצונית המתפתחת עם הגמילה, אולם רק יום אחד לאחריה.

מסקנות שנה ב'

כמו בשנה א' גם התוצאות המובאות בשנה ב' מצביעות על התועלת, בטווח הקצר, שיש להוספת מוצרי קליפות רימונים לתחליף החלב במניעת העקה החמצונית המתפתחת לאחר הגמילה, ובהשפעה המיטיבה על בריאות העגל במהלך תקופת הינקות. אולם, ויתכן כי גם בשל ההבדל במוצרים בהם השתמשנו בכל אחת משנות המחקר, ניתן להגיד כי לא די במתן תוסף קליפות הרימון עד הגמילה, וכי כדאי להמשיך במתן התוסף גם מספר שבועות לאחריה, כדי להקטין את הסיכון של התפתחות עקת חמצון אשר לה השלכות על התפתחות מחלות נשימה הקשורות בהגברת פסילת כשרות הבשר.

שנה ג'

באיור 8 ניתן לראות את השפעת ההוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על רמת הביטוי של החלבון Hsp70. למרות הביטוי הנמוך יותר של החלבון בקבוצת הרימונים יום ויומיים לאחר הגמילה, ההבדלים לא היו מובהקים בהשוואה לקבוצת הביקורת. אולם, כאשר מבטאים את היחס של רמות Hsp70 בכל יום לאחר הגמילה אלה שלפני הגמילה, ניתן לראות כי רמת הביטוי של החלבון בקבוצת הרימונים נטתה להיות יום לאחר הגמילה, הייתה נמוכה באופן מובהק בקבוצת הרימונים יומיים לאחר הגמילה והמשיכה בנטייתה זאת גם בימים השלישי והשביעי לאחר הגמילה (טבלה 1). באופן זה רמות הביטוי של כל עגל מנורמלות לעצמן ומנטרלות את המיסוך בשל השונות האינדיבידואלית. תוצאות אלה עולות בקנה אחד עם תוצאות העקה החמצונית שהוצגו בשנה הראשונה (איורים 3, 4), בהן תוארה רמת עקת חמצון נמוכה באופן מובהק בקבוצת הרימונים לאחר הגמילה. החלבון Hsp70 הוא חלבון עקה שרמת ביטויו עולה, בין היתר, גם בתגובה לעקה חמצונית. ניתן להסיק כי תוסף קליפות הרימונים ממתן את נזקי עקת החמצון, מונע את התפתחותה ואינו מצריך את הגברת רמות הביטוי של Hsp70 כדי לתקן את נזקיה הפוטנציאליים. ממצאים מהעשור האחרון מלמדים כי Hsp70 מופרש באופן אקטיבי מהתאים אל זרם הדם, והוא בעל כושר מודולציה של מערכת החיסון דרך הרצפטורים TLR2, TLR4, בדומה לאנדוטוקסין החיידקי LPS.

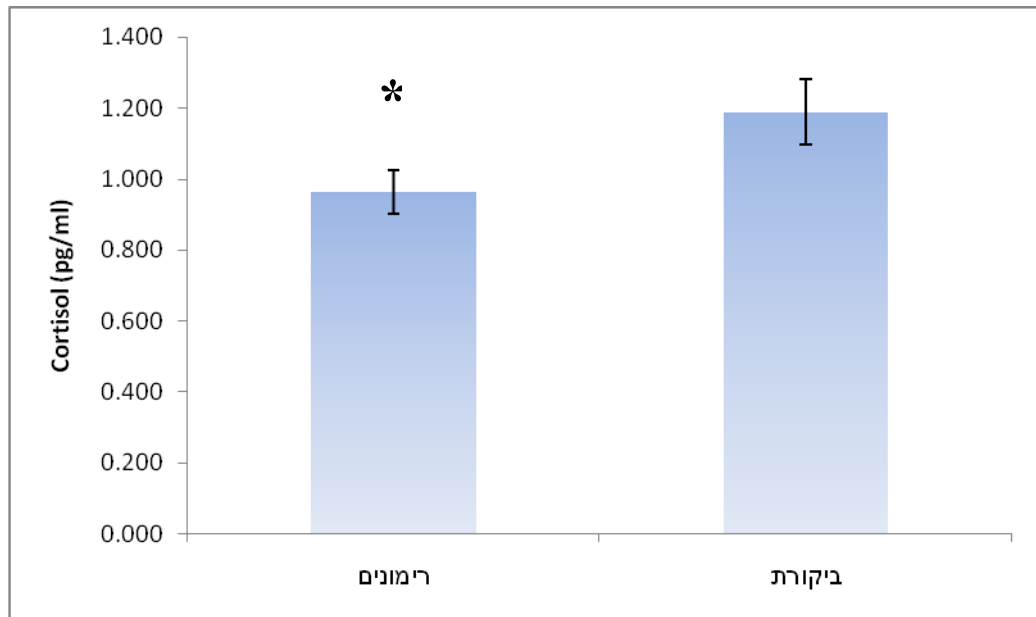


איור 8: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על ביטוי החלבון Hsp70. ניתן לראות שהתגובה לעקת גמילה גבוהה יותר בקבוצת הביקורת.

טבלה 1: יחס רמות הביטוי של החלבון Hsp70 בימים השונים שלאחר הגמילה לאלה של לפנייה. ניתן לראות כי יומיים לאחר הגמילה רמות הביטוי של החלבון בקבוצת הרימונים היו נמוכות באופן מובהק משל קבוצת הביקורת.

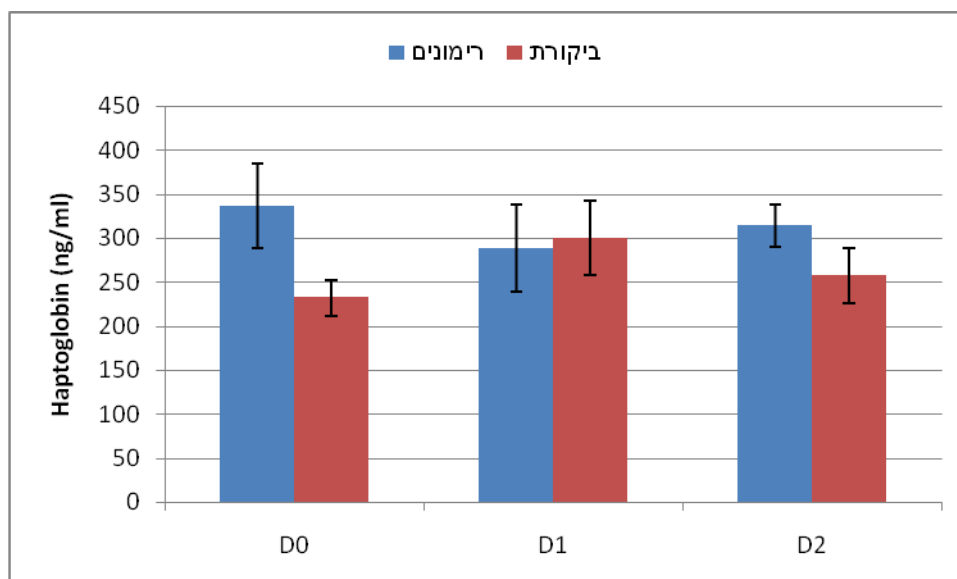
	d1/d0	d2/d0	d3/d0	d7/d0
ביקורת	1.24±1.6	2.23±2.1	2.48±3.2	2.9±3.8
רימונים	0.28±0.37	0.71±0.58	0.86±0.8	0.71±1.2
מובהקות	0.1	0.04	0.08	0.08

באיור 9 מתוארת השפעת הוספת מיצוי קליפות רימונים על רמת הקורטיזול בפלסמה, כמדד לעקה כללית. ניתן לראות כי ריכוז הקורטיזול בפלסמה של עגלים שקבלו תוסף של קליפות רימונים בחלב היה נמוך באופן מובהק משל עגלי הביקורת. ידוע כי עקה המתווכת ע"י הפרשה של קורטיזול עשויה להביא לפגיעה בביצועי מערכת החיסון, זאת מאחר והיא מביאה להשתקה (או לרגיעה) של התגובה הדלקתית. שלא בתנאי עקה זהו תהליך טבעי שתפקידו למנוע overshoot ממושך של התגובה הדלקתית. אולם, נוכחות של פתוגן בקרבת עגלים המגיבים באופן הזה יכולה לגרום לוירולנטיות בגלל החלשת מנגנוני ההתמודדות של המערכת איתו. זאת ועוד, ידוע כי לחיידקים המאכלסים את גופנו (ובכללם אלה המצויים במערכת הנשימה של עגלים) היכולת לחוש את הורמוני העקה של המאחסן, בעזרת רצפטורים המצויים בדופן התא שלהם. בתגובה לכך הם יוצרים ביופילם ומתחילים לבטא גנים וירולנטים, ובכך הופכים מנאיבים לפתוגנים.



איור 9: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על ביטוי רמות הקורטיזול בפלסמה של עגלים, יום לאחר הגמילה. כוכבית מציינת הבדל מובהק ($P < 0.05$) ביחס בין הריכוז יום לאחר הגמילה לריכוז לפני הגמילה.

לצורך קביעת השפעת תוסף קליפות הרימונים על התפתחות התגובה הדלקתית בעקבות הגמילה, בחרנו לבצע אנליזה של אחד מה *acute phase proteins*, הפטוגלובין, אשר ידוע במתאם החיובי הגבוה שלו עם תגובות דלקתיות. הסיבה שמשמשים בו היא יציבותו היחסית בהשוואה להופעה קצרת הטווח של ציטוקינים דלקתיים והקושי היחסי בניטור שלהם. ניתן לראות באיור 10 כי למרות שהריכוז בפלסמה היה גבוה יותר בקבוצת הרימונים לפני הגמילה ($P=0.06$), הבדלים אלה התטשטשו יום ויומיים אחרי הגמילה ($p=0.87$, $p=0.22$, עבור יום 1 ויום 2 אחרי הגמילה, בהתאמה). המסקנה המיידית היא כי אין השפעה לקליפות הרימונים כתוסף מזוני על התגובה הדלקתית, אולם, יתכן כי כל עוד הם ניתנים במנה הם יוצרים תגובת סף גבוהה יותר כהכנה של המערכת לזמן אמת (*hormetic effect*). השערה זאת צריכה להיבדק.



איור 10: השפעת הוספה של מיצוי קליפות רימונים לתחליף החלב על ריכוז הפטוגלובין בפלסמה של עגלים, לפני (D0), יום (D1) ויומיים (D2) לאחר הגמילה.

התוצאות המובאות בטבלה 2 מלמדות על השפעת מתן מיצוי קליפות רימונים בטווח הארוך, קרי, על פנוטיפ הכשרות וממדי טבחה. ניתן לראות כי אין יתרון לעגלים שקבלו קליפות רימונים במהלך תקופת הינקות. הדבר מתבטא במספר דומה של מקרי הכשרות/טרפה, כמו גם באחוז הטבחה וב pH שלה.

טבלה 2: מדדי כשרות ואיכות בשר בקבוצות הביקורת והרימונים

	ביקורת	רימונים
כשר	12	9
חלק	0	1
טרף	2	3
כשרות (%)	85.7	76.9
טבחה (%)	57±1.3	56±1.2
חלק קדמי pH	64	56

מסקנות כלליות

כמו בשנים א' וב', התוצאות המובאות בשנה השלישית מצביעות גם הן על התועלת, בטווח הקצר, שיש להוספת מוצרי קליפות רימונים לתחליף החלב במניעת העקה הכללית המתפתחת לאחר הגמילה. מתוצאות השנה השלישית ניתן לראות כי, בטווח הארוך, אין יתרון לעגלים שקבלו קליפות רימונים

במהלך תקופת הינקות. הדבר מתבטא במספר דומה של מקרי הכשרות/טרפה, כמו גם באחוז הטבחה וב pH שלה.

אנו סבורים כי הסיבה לכך היא עיתוי מתן תוסף קליפות הרימונים. העגלים שהשתתפו בתכנית המחקר הנוכחית הגיעו ליונקיה בנוה יער בגיל ממוצע של 14 יום, והתחילו לקבל את התוסף כמה ימים לאחר הגעתם. אנו משערים (גם לאור ממצאים אחרים שהתקבלו במעבדתנו בתקופה האחרונה), כי תקופת החיים הראשונה (עד גיל שבוע) היא קריטית בעצוב תהליכים ואינדוקציה של מנגנוני הגנה מפני מחלות נשימה עתידיות, ולכן התערבות דוגמת זו של תכנית המחקר הנוכחית צריך שתקרה סמוך יותר ללידה. בנוסף, אנו סבורים כי לא די במתן תוסף קליפות הרימון עד הגמילה, וכי כדאי להמשיך במתן התוסף גם מספר שבועות לאחריה, כדי להקטין את הסיכון של התפתחות עקת חמצון אשר לה השלכות על התפתחות מחלות נשימה הקשורות בהגברת פסילת כשרות הבשר בשלבים מאוחרים יותר לאחר הגמילה.

ספרות מצוטטת

Adams, L.S., Seeram, N.P., Aggarwal, B.B., Takada, Y., Sand, D., Heber, D., (2006). Pomegranate juice, total pomegranate ellagitannins, and punicalagin suppress inflammatory cell signaling in colon cancer cells. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 980–985

Aerts, R. J., Barry, T. N. and McNabb, W. C. (1999). Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture Ecosystem & environment* **75**: 1-12.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Assoc. Offic. Anal. Chem. Arlington, VA.

Broadhurst, R.B., Jones, W.T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.* **29**: 788–794.

Chirase, N. K., Greene, L. W., Purdy, C. W., Loan, R. W., Auvermann, B. W., Parker, D. B., Walborg, E. F. Jr, Stevenson, D. E., Xu, Y. and Klaunig, J. E. (2004). Effect of transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.* **65(6)**: 860-864.

Gil, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M., Kader, A.A., (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 4581–4589.

Gosselink, J.M.J., Dulphy, J.P., Poncet, C., Jailler, M., Tamminga, S., Cone, J.W., (2004). Prediction of forage digestibility in ruminants using in situ and in vitro techniques. *Anim. Feed Sci. Tech.* **115**: 227-246.

Inoue, K., Hagerman A., (1988). Determination of gallotannin with rhodanine. *Anal. Biochem.* **169**: 363–369.

Jia, Z.S., Tang, M.C., Wu, J.M., (1994). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food. Chem.* **64**: 559-559.

Kahn, L. P. and Diaz-Hernandez, A. (2000). Tannins with anthelmintic properties. In: *Tannins in Livestock and Human Nutrition*. Brooker, J.D (Ed). www.aciar.gov.au/publications/proceedings/92/index.htm

Kerem, Z., Bilkis, I., Flaishman, M.A., Sivan, L., (2006b). Antioxidant activity and inhibition of α -glucosidase by trans resveratrol, piceid, and a novel trans-stilbene from the root of Israeli Rumax buccephalophorus L. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 1243-1247.

Kulkarni, A.P., Aradhya, S.M., Divakar, S., (2004). Isolation and identification of a radical scavenging antioxidant-punicalagin from pith and carpellary membrane of pomegranate fruit. *Food Chem.* **87**: 551–557.

Makkar H.P.S., (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Res.* **49**: 241-256.

Min, B. R., Attwood, G. T., Reilly, K., Sun, W., Peters, J. S., Barry, T. N. and McNabb, W. C. (2002). Lotus corniculatus condensed tannins decrease in vivo populations of proteolytic bacteria and affect nitrogen metabolism in the rumen of sheep. *Can. J. Microbiol.* **48(10)**: 911-921.

NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Revised Edition. National Academy Press. Washington, DC, USA.

Shabtay, A., Eitam, H., Tadmor, Y., Orlov, A., Meir, A., Weinberg, P., Weinberg, Z.G., Chen, Y., Brosh, A., Izhaki, I. and Kerem, Z. (2008). Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial waste as a novel beef cattle feed. *J. Agric. Food Chem.* 56(21), 10063-10070.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299: 152-178

Tadmor, Y., King, S., Levi, A., Davis, A., Meir, A., Wasserman, B., Hirschberg, J., and Lewinsohn, E., (2005). Comparative fruit colouration in watermelon and tomato. *Food Res. Int.* 38: 837–841.

Tilley, J. M.A., Terry, R.A., (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 18: 104–111.

Tzulker, R., Glazer, I., Bar-Ilan I., Holland, D., Aviram, M., Amir, R., (2007). Antioxidant activity, polyphenol content, and related compounds in different fruit juices and homogenates prepared from 29 different pomegranate accessions. *J. Agric. Food Chem.* 55: 9559-9570.

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A., (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74: 3583– 3597.

Vaya, J., Mahmood, S., Goldblum, A., Aviram, M., Volkova, N., Shaalan, A., Musa, R. and Tamir S. (2003). Inhibition of LDL oxidation by flavonoids in relation to their structure and calculated enthalpy. *Phytochemistry.* 62(1): 89-99.

