مجلة الزراعة العراقية مجلد13 عدد2 ص123- 128 تموز/2008

التغيرات الكيميائية في بروتينات حليب الأبقارالمصابة بألتهاب الضرع

جاسم محمد صالح السعدي

الملخص

درست التغيرات الحاصلة في بروتينات حليب الأبقار نتيجة ألتهاب الضرع التجريبي المفتعل بحقن الذيفان الداخلي لبكتريا *E. coli*، اذ أنخفض تركيز كل من البروتين الكلي والكازينات من **35.40** و**24.8** غم /لتر قبل الأصابة الى **30.43** و**18.82**غم /لتر بعد يومين من ظهور الأصابة على التوالي وأستمر اربعة ايام بعد الأصابة. عاد بعدها الى معدلاته الطبيعية، بينما أزداد تركيز بروتينات الشرش ومقدار التحلل البروتيني من **10.6**غم /لتر و**15.1** مايكروغرام /مل قبل الأصابة الى **12.91**غم /لتر و**103.10** مايكروغرام /مل بعد يومين من الأصابة على التوالي.

أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي أنخفاض النسبة المئوية للألفا أس كازين ، بيتا كازين، كابا كازين، بيتالاكتوكلوبيولين ،ألألفالاكتألبومين من **42.11**، **22.06**، **5.96**، **8.75**، **2.09**% قبل الأصابة الى **36.24**، **18.97**، **5.22**، **7.73**، **0.58** % بعد يومين من الأصابة على التوالي. بينما أرتفعت نسبة الالبومين لمصل الدم البقري من **0.11**% قبل الأصابة الى **1.46** % بعد يوم من الأصابة.

المقدمة

ألتهاب الضرع هو تعبير عام يشير إلى العدوى الجرثومية التي تصيب الغدد اللبنية للحيوانات اللبونة عند أصابتها بالمسببات المرضية، وأشارت دراسة سابقة (**5**) الى أن ألتهاب الضرع يُحدث عدداً من التغيرات الكيموحيوية التي تؤثر في نوعية الحليب وجودة المنتجات المصنعة منه. وتختلف سرعة انتشار العدوى في النسيج الافرازي للحيوانات اللبونة تبعاً للمسبب والعوامل البيئية المرافقة وحالة الحيوان الفردية (**14**). ويرافق التهاب الضرع عملية تحطم للبروتينات وانخفاض نسبة الكازين في الحليب (**10**، **12**)، كما وجد بعض الباحثين **Kisza** و **Kruk** (**9**) انخفاضاً واضحاً في تركيز الكازين الموجود في الحليب بسبب التهاب الضرع يرافقه زيادة في بروتينات مصل الدم نتيجة لزيادة نضح الدم إلى الحليب. وجد **Golda, L. M.** وجماعته (**5**) حدوث زيادة بنسبة **38**% في بروتينات الشرش في حليب الضرع الملتهب مقارنة بالحليب الطبيعي، بينما ذكر **shikawa, H.** و **T. Shimizu** (**7**) أن نسبة الزيادة في بروتينات الشرش نتيجة الاصابة بمرض ألتهاب الضرع كانت **56**%. أشارت دراسات أخرى إلى انخفاض تركيز الألفا أس كازين والبيتا كازين والألفا لاكتالبومين والبيتا لاكتو كلوبيولين في الحليب بينما يزداد تركيز البروتينات الأخرى الناضحة من الدم مثل ألبومين المصل البقري وبروتينات المناعة عند الاصابة بالتهاب الضرع والذي يرافقه أرتفاع عدد الخلايا الجسمية إلى أكثر من 500×10^3 خلية/مل (**4**، **11**).

وذكرت مجموعة من الباحثين (**18**) أن أصابة الحيوان بألتهاب الضرع أدى الى زيادة تركيز البومين مصل الدم البقري وكلوبيولينات المناعة واللاكتوفيرين في حليبه مقارنة بتركيز هذه البروتينات قبل الأصابة.

هدف هذا البحث هو دراسة التغيرات الحاصلة في بروتينات الحليب البقري نتيجة الأصابة بألتهاب الضرع والتي تؤثر في الصفات الكيميائية والنوعية للحليب المنتج.

الكلية التقنية الزراعية – حلبجة – سليمانية، العراق.

تاريخ تسلم البحث: آيار/**2005**.

تاريخ قبول البحث: تموز/**2006**.

المواد وطرائق البحث

تم إحداث التهاب الضرع المفتعل بحقن جميع اضرع ثلاث أبقار سليمة ونظيفة تابعة لحقل أبقار العامرية العائد إلى مركز إباء للأبحاث الزراعية ، بمقدار 2 مل من محلول الذيفان الداخلي (Endo toxin) لبكتريا *E.coli* تركيزه 2 مايكرو غرام/مل (مذاب في المحلول الملحي الفسيولوجي) في كل ربع من أرباع الغدة اللبنية وذلك من اجل إحداث التهاب ضرع مفتعل (16).

حضر الكازين الحامضي بترسيب الكازين من الحليب الفرز على درجة حرارة 20 م وباستعمال حامض الهيدروكلوريك (1 مولاري) حتى الوصول الى الرقم الهيدروجيني 4.5. وجمع الكازين المترسب بالطرد المركزي وغسل الكازين بالماء المقطر. اعيدت هذه العملية ثلاث مرات للتخلص من اثار بروتينات الشرش، وقدرت النسبة المئوية للبروتين في الحليب والشرش الحامضي بأستخدام طريقة كلدال (8) ، وحُسب تركيز البروتين في الكازين بالطرح ، وقدر تركيز الحامض الأميني التايروسين بطريقة Hall (6).

تم اجراء الترحيل الكهربائي وباستعمال جهاز الترحيل الكهربائي المجهز من قبل شركة BDH البريطانية وحسب تركيز البروتينات باستخدام جهاز المفراس (Densitometer) (2).

النتائج والمناقشة

يلاحظ من جدول (1) أن تركيز البروتين الكلي في الحليب قبل الأصابة كان 35.40غم/لتر في زمن الصفر. أما عند حدوث الأصابة بألتهاب الضرع فيلاحظ حدوث أنخفاض في تركيز البروتين ليصل أقصاه بعد يومين من الأصابة، أذ بلغ تركيز البروتين 30.43 غم/لتر. حدثت بعدها زيادة تدريجية في تركيز البروتين ليصل بعد مرور سبعة أيام الى 35.05 غم/لتر. يوافق الأنخفاض في تركيز البروتينات عند الأصابة بألتهاب الضرع الملاحظ في هذه التجربة ما ذكره مجموعة من الباحثين Munro وجماعته (12) من أن الأصابة بألتهاب الضرع أدت الى حدوث أنخفاض في نسبة البروتين في الحليب، وهذا قد يعود الى أنخفاض قابلية الخلايا الأفرازية في الضرع على تخليق البروتين اونتيجة لزيادة التحلل البروتيني (10).

جدول (1): التغيرات التي حدثت في تركيز البروتين الكلي، الكازين، بروتينات الشرش، التحلل البروتيني في الحليب في أثناء الأصابة بألتهاب الضرع*

الأيام	البروتين الكلي (غم / لتر)	كازين (غم / لتر)	بروتينات الشرش (غم / لتر)	التحلل البروتيني (مايكروغرام / مل)
0	35.40	24.8	10.6	15.1
1	32.87	20.42	12.45	53.4
2	30.43	18.82	12.91	103.1
3	30.51	19.08	11.43	89.5
4	30.64	19.54	11.10	77.6
5	33.80	22.98	10.82	43.3
6	34.28	23.81	10.47	27.1
7	35.05	24.62	10.43	18.1

*الارقام تبين متوسط ثلاثة مكررات

كما يلاحظ من جدول (1) حدوث أنخفاض في تركيز الكازينات عند الأصابة بألتهاب الضرع أذ أنخفض تركيزها من 24.8غم/لتر قبل الأصابة الى 18.82غم/لتر بعد يومين من الأصابة، ويعود سبب هذا الأنخفاض في تركيز

الكازين الى أنخفاض قابلية الخلايا الأفرازية في الضرع على تخليقه بسبب الأصابة بألتهاب الضرع (18). وهذه النتيجة تؤيد ماتوصلت اليه دراسة سابقة حيث لوحظ حدوث أنخفاض في تركيز الكازين عند الأصابة بألتهاب الضرع (9).

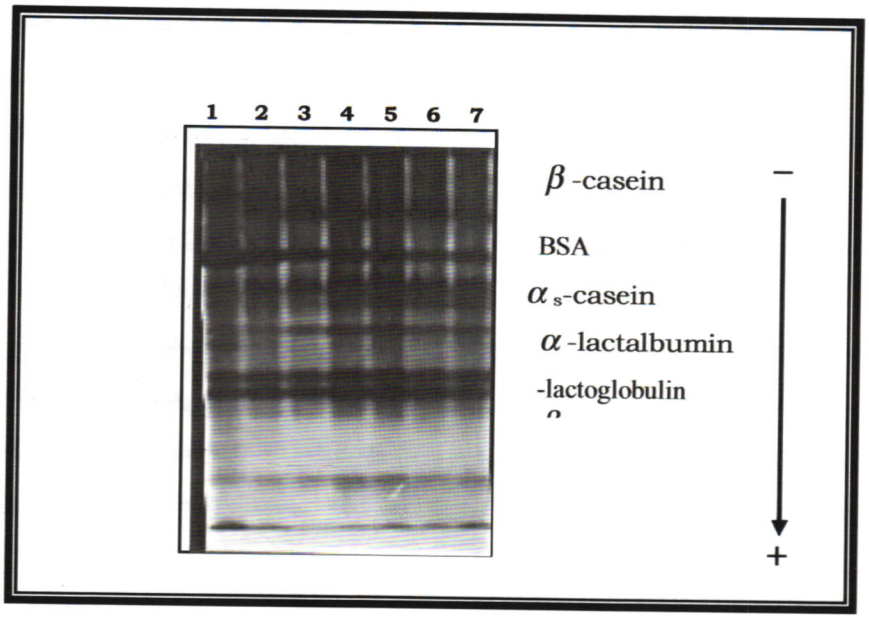
أما بالنسبة لبروتينات الشرش فيلاحظ من جدول (1) حدوث زيادة كبيرة في تركيزها عند الأصابة بألتهاب الضرع، أذ أرتفع تركيزها من 10.6 غم/ لتر قبل الأصابة ليصل 12.91 غم/ لتر بعد يومين من الأصابة سبب ذلك الى نضوج كمية كبيرة من البروتينات الموجودة في الدم الى الحليب (11). أنخفض بعدها تركيز بروتينات الشرش تدريجيا ليصل بعد مرور سبعة أيام الى 10.43 غم / لتر .

أما بالنسبة لتأثير التهاب الضرع على التحلل البروتيني في الحليب فيلاحظ من جدول (1) أن مقدار التحلل البروتيني في حليب الابقار الطبيعي بعد الحلب مباشرةً كان 15.1 مايكروغرام/مل وهذه القيمة أعلى مما وجده عبد الغني (1) الذي ذكر بان قيمة Tyr_0 تساوي 9.5 مايكروغرام/مل. وقد يعود سبب الاختلاف إلى تباين الظروف البيئية والتغذوية وإلى فردية الحيوان واختلاف موسم الحلب (16)، كما يلاحظ في الجدول (1) ارتفاع قيم Tyr_0 في حليب الضرع الملتهب إذ بلغ اعلى ارتفاع له بعد مرور يومين على عملية حقن الذيفان الداخلي إذ بلغت قيمة Tyr_0 103.1مايكروغرام/مل.

وهذا يتفق مع ما جاءت به دراسات سابقة ذكرت بان مستويات قيم Tyr_0 بعد اصابة الحيوان تزداد عدة اضعاف على كانت عليه في الحليب الطبيعي (17)، وقد تعزى الزيادة في محتوى حليب الضرع المصاب من نواتج التحلل البروتيني لعدة أسباب ومنها أما لحدوث تثبيط لعملية تصنيع البروتينات في الغدة اللبنية بسبب الالتهاب (13) أو لنضوح نواتج التحلل البروتين من الدم إلى الحليب مباشرة (15) وكذلك إلى نشاط الأنزيمات المحللة للبروتين والتي مصدرها في الغالب الخلايا البيض بسبب نسبتها العالية في حليب الضرع الملتهب داخل الغدة اللبنية (3).

وعند دراسة التغيرات التي حدثت للألفا أس كازين، بيتا كازين ، كابا كازين نتيجة لألتهاب الضرع لوحظ حدوث أنخفاض في تركيزها نتيجة للمرض (شكل 1، جدول 2)، من 42.11، 22.06 و5.96 % قبل الأصابة الى 36.24، 18.97و5.22 % بعد يومين من الأصابة على التوالي، ويعود سبب هذا الأنخفاض الى الضرر الذي حدث في النسيج الأفرازي للضرع بسبب الأصابة بالألتهاب وكذلك الى زيادة نسبة البروتينات الناضحة من الدم الى الحليب (18). حدث بعدها أرتفاع تدريجي في النسبة المئوية لهذه البروتينات بمرور الوقت ليصل الى مستويات مقاربة لمستوياته الطبيعية بعد سبعة أيام من الأصابة مما يشير الى شفاء الضرع وعودته الى حالته الطبيعية في تخليق الكازينات (18). أن هذه النتيجة تتفق مع ماذكر من أن الأصابة بألتهاب الضرع تؤدي الى أنخفاض النسب المئوية للكازينات في الحليب (12).

عند مقارنة النسب المئوية للبيتا لاكتوكلوبيولين والألفالاكتألبومين لوحظ أنها أنخفضت بعد الأصابة بألتهاب الضرع أذ وصل تركيز البيتا لاكتوكلوبيولين الى 6.82 % بعد ثلاثة أيام من ألأصابة بعد أن كان 8.75 % قبل الأصابة، كما أنخفض تركيز الألفالاكتألبومين من 2.09 % قبل الأصابة الى 0.58 % بعد يومين من الأصابة ويمكن تفسير هذا الأنخفاض بالضرر الحادث في النسيج الأفرازي للضرع بسبب الأصابة بالألتهاب والى زيادة نسبة البروتينات الناضحة من الدم الى الحليب (7). عادت بعد ذلك النسب المئوية لهذه البروتينات الى الزيادة لتصل الى مستويات مقاربة لمستوياتها الطبيعية بعد سبعة أيام من الأصابة مما يدل على شفاء الضرع وعودته الى حالته الطبيعية في تخليق بروتينات الشرش (18).



شكل (1): الترحيل الكهربائي على هلام متعدد الأكريل أمايد لنماذج حليب الأبقار المصابة بألتهاب الضرع .أذ يمثل 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7 نماذج حليب الأبقار بعد 1، 2، 3، 4، 5، 6، 7 أيام من الأصابة بألتهاب الضرع على التوالي.

جدول (2): التغيرات التي حدثت في النسب المئوية لألفا أس كازين، بيتا كازين، كابا كازين، بيتاالاكتوكلوبيولين، الفالاكتألبومين، البومين مصل الدم البقري في أثناء الأصابة بألتهاب الضرع .*

ألأيام	الفا أس كازين (%)	بيتا كازين (%)	كاباكازين (%)	بيتالاكتوكلوبين (%)	الفالاكتألبومين (%)	البومين مصل الدم البقري (%)
0	42.11	22.06	5.96	8.75	2.09	0.11
1	37.93	19.83	5.56	7.87	1.21	1.46
2	36.24	18.97	5.22	7.73	0.58	1.21
3	39.19	19.35	5.73	6.82	1.01	1.19
4	39.48	20.33	5.87	7.47	1.85	0.87
5	39.69	21.05	5.94	7.79	1.92	0.16
6	41.33	21.44	5.98	8.31	1.93	0.13
7	42.22	21.89	5.96	8.59	2.02	0.12

*الارقام تبين متوسط ثلاثة مكررات.

أما بالنسبة لألبومين مصل الدم البقري فيلاحظ حدوث زيادة واضحة وكبيرة في مستواه عند الأصابة بالألتهاب، أذ أرتفع تركيزه بمقدار عشر مرات بعد يوم من الأصابة، اذ وصلت نسبته المئوية له الى 1.46% بعد يوم من الأصابة بعد ان كانت 0.11 % قبل الأصابة، وقد يعود سبب ذلك الى زيادة نفاذية النسيج الأفرازي للضرع وبالتالي زيادة نسبة سيرم الالبومين البقري BSA الواصل الى الحليب من الدم (18).

مما سبق يمكن الاستنتاج ان ألتهاب الضرع ادى الى حدوث تغيرات كبيرة في بروتينات الحليب البقري وهذا بدوره أدى الى تغيرات واضحة في الصفات الكيميائية والنوعية للحليب المنتج.

المصادر

1- عبد الغني، عطا الله حميد (1984). دور التهاب الضرع في تحلل دهن حليب الأبقار، رسالة ماجستير- كلية الزراعة - جامعة بغداد، العراق .

2- Andrews, A. T. (1983). Breakdown of casein in bovine milks with high somatic cell counts arising from mastitis or infusion with bacterial endotoxin . J. Dairy Res., 50: 57-66.

3- Derham, O. and A. T. Andrews (1982). Qualitative and quantitative determination of proteolysis in mastitis milk. J. Dairy Res., 49:587-596.

4- Dulin, A. M.; M. J. Paape and W. P. Wering (1982). Differentation and enumeration of somatic cell in goat milk. J. Food Sci., 45:435-439.

5- Golda, L. M.; P. A. Grieve and B. J. Kitchen (1984). Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. Australian Journal of Dairy Tech., 7-16 .

6- Hull, M. E. (1947). Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the patial hydrolysis of the proteins in milk. J. Dairy Sci., 30:881-890.

7- Ishikawa, H. and T. Shimizu (1982). Protein composition of whey from subclinical mastitis and effect of treatment with levamisole. J. Dairy Sci , 65:653-658.

8- Jacobs, M. B. (1951). The chemical analysis of foods and food products. Van Nostrand Company, INC, New York.

9- Kisza, J. and B. Kruk, (1970). Proc. Int. Dairy Congr. B3, 527. (Cited from Munro, G. L.; Grieve, P. A. and Kitchen, B. A. (1984). Effects of mastitis on milk yield, milk compostion, Processing properties and yield and quality of milk products. Aust. J. Dairy Tec., 39 (3):7-16.

10- Mitchell, G. E.; S. A. Rogers; D. B. Houlihan and V. C. Tucker (1986). The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 1-composition of farm bulk milk. Aust. J. Dairy Tech., 41:9-12.

11- Mrode, R. A.; G. J. T. Swanson and C. M. Lind berg (2002). Genetic correlation of somatic cell count and conformation traits with herd life in the United Kingdom. Livestock Production and Sci., 65:119-130.

12- Munro, G. L.; P. A. Grieve and B. A. Kitchen (1984). Effects of mastitis on milk yield, milk compostion, Processing properties and yield and quality of milk products. Aust. J. Dairy Tech., 39 (3):7-16.

13- Nickerson, S. C.; J. J. Smith and T. W. Keenan (1982). Ultrostructural and biochemical effects of staphylotoxin on alveoli isolated from rat mammary gland. Res. Vet. Sci. 33:31-39. (cited from Dairy Sci., Abs. 44:8410).

14- Philpot, W. N. and S. C. Nickerson (1999). Mastitis. counter attach, a strategy to combat mastitis. Babson Bros. CO., Naperville, IL.

15- Robert, J. V. and M. D. Barbano (1991). Properties of proteases from milk somatic cells and Blood leukocytes. J. Dairy Sci.,

16- Sbodio, S. A.; M. R. Freyre; L. Romano; N. G. Sabbage; C. A. Osello and F. Paura (1981). Distribution of nitrogenous substances. Electrophoretic fractionation of caseins and soluble proteins in normal and mastitic milk. Revista del Instituo de Technologia de Alimentos. 3:75-84. (cited from Dairy Sci. Abs. 44:5680).

17- Urech, E.; Z. Puhan and M. Schallibaum (1999). Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. J. Dairy Sci., 82:2402-2411.

THE CHEMICAL CHANGES IN COWS MILK PROTEINS DURING MASTITIS INFECTION

J. M. S. Al-Saadi

ABSTRACT

The changes in cow's milk proteins during experimetally induced mastitis were examined.

The concentrations of total protein, casein were decreased from 35.40 and 24.8 gm/L before mastitis to 30.43 and 18.82 gm/L after two days from infection respectively. The concentration of whey proteins and degree of hydrolysis proteolysis was increased from 10.6 gm/L and 15.1 µg/ml before mastitis to 12.91 gm/L and 103.10 µg/ml after two days from infection respectively.

The percentage of α_s-casein, β-casein, k-casein, β-lactoglobulin and α-lactalbumin were decreased from 42.11, 22.06, 5.96, 8.75, 2.09% before mastitis to 36.24, 18.97, 5.22, 7.73, 0.58% after two days from infection respectively, while the percentage of bovine serum albumine increased from 0.11 % before mastitis to 1.46% after one day from mastitis.

Technical college of Agric.- Helabsha- Sulymania, Iraq.