دراسة تأثير بعض المعاملات الحرارية على انخفاض فرط الحساسية على الفئران البيضاء التي تتناول بروتينات حليب البقر والماعز

جاسم محمد صالح السعدي
مختبرات اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات
وزارة الزراعة

ازهار جواد الموسوي
قسم الصناعات الغذائية
كلية الزراعة — جامعة بغداد

المستخلص

تم في هذا البحث دراسة تأثير بعض المعاملات الحرارية على قابلية كل من الكازين والشرش لحليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية في الفئران المصابة بفرط حساسية لبروتينات حليب البقر .

كانت هناك تفاعلات مناعية مشتركة لازالة التحبب من الخلايا البدينة بين بروتينات حليب البقر والماعز ولم تؤد المعاملات الحرارية إلى تغير كبير في قابلية الكازين لحليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية ، بينما ادت المعاملة 100°م لمدة ½ ساعة و 121°م لمدة 20 دقيقة إلى انخفاض كبير في قابلية الشرش وحليب الماعز على احداث فرط الحساسية .

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences, 36(4) : 145 – 150, 2005 Al-Saadi & Al-Musawi

STUDY THE EFFECTS OF SOME HEAT TREATMENTS ON COW'S AND GOAT'S MILK ALLERGY

J M.S. Al-Saadi
The National Committee for
Pesticides Registrations and Approval
Ministry of Agriculture

A. J. Al-Musawi
Food Sci. Dept.
College of Agriculture

ABSTRACT

In this paper we studied the effects of some heat treatments on the ability casein and whey of cows and goats milk to induce allergy in cows milk allergic mice.

There were cross- reactions between cow's and Goat's milk proteins . Heat treatments did not lead to large changes in cow's and goat's milk and casein ability to induce allergy , while heating goat's whey at 100°C for 30 min. and 121 °C for 20 min. reduce it's ability to induce allergy .

المقدمة

تبلغ نسبة الاطفال الرضع المصابين بفرط الحساسية تجاه بروتينات حليب البقر 0.5-7.5% (15) ويعاني الاطفال المصابون بفرط حساسية بروتينات حليب البقر من عدد من الاعراض المرضية اهمها الاسهال ، التقيؤ ، آلم في البطن ، التهابات جلدية، الربو ، وصدمة فرط الحساسية (7).

اختلفت الدراسات العلمية بشكل كبير في امكانية استخدام حليب الماعز لتغذية الاطفال الرضع المصابين بفرط الحساسية لبروتينات حليب البقر ، اذ اشار مجموعة من الباحثين إلى ان حليب الماعز بديل مناسب لحليب البقر معتمدين في ذلك على بعض المشاهدات والحالات السريرية (10 ، 11) ، وعلى الجانب الاخر وجد باحثين اخرين ان هناك تفاعلات مناعية مشتركة بين بروتينات حليب الماعز والبقر تقلل من اهمية استخدام حليب الماعز كبديل لحليب البقر في تغذية الرضع المصابين بفرط الحساسية(1 ، 3) ، استخدمت بعض البحوث المعاملات الحرارية للحليب البقري ، الكازين والشرش كوسيلة لانتاج تركيبة حليب اطفال يقلل من احتمالية احداث لفرط الحساسية (4 ، 6 ، 8). وقد وجد Happell (4) ، ان المعاملات الحرارية التي تؤدي لمسخ (دنترة) بروتينات الشرش هي طريقة منطقية وبسيطة لانتاج تركيبة حليب اطفال غير منتجة لفرط الحساسية ، بينما لم تؤدي المعاملات الحرارية إلى الحصول على نتائج ايجابية عند استخدامها في الكازين او الحليب الكامل . وبسبب الاختلافات الكيميائية الكبيرة بين بروتينات حليب البقر والماعز (5) والتي ادت إلى اختلاف قابلية بروتينات حليب هذين النوعين على احداث فرط الحساسية (1) ، فقد هدف هذا البحث إلى دراسة تأثير بعض المعاملات الحرارية على فرط حساسية بروتينات حليب البقر والماعز ، وامكانية الاستفادة من هذه الطريقة لانتاج تركيبة حليب اطفال يقلل من احتمالية فرط الحساسية لفرط الحساسية .

*تاريخ استلام البحث 2005/2/7 ، تاريخ قبول البحث 2005/5/25

المواد وطرائق العمل

تم الحصول على نماذج حليب البقر والماعز من بين الحيوانات التابعة لقسم الثروة الحيوانية كلية الزراعة – جامعة بغداد ، استخدمت في هذه التجربة فئران بيضاء من سلالة BALB/C وبعمر 5-8 اسابيع . غذيت الفئران على عليقة مركزة خالية من بروتينات الحليب وربيت في اقفاص خاصة وعلى حرارة 20-25°م.

فرزت نماذج الحليب باستخدام جهاز النبذ المركزي نوع Bechman طراز J2-21 وبسرعة gX2400 لمدة 15 دقيقة وفي حرارة 4° م .

حضر الكازين الحامضي بترسيب الكازين من الحليب الفرز باستخدام حامض الهيدروكلوريك (M1) حتى الوصول إلى الاس الهيدروجيني 4.5 بالنسبة لحليب البقر و 4.3 بالنسبة لحليب الماعز (16). فصل الكازين المترسب باستخدام النبذ المركزي على g X 2400 لمدة 15 دقيقة على حرارة 4° م . الجزء العلوي (الشرش) رشح باستخدام ورقة الترشيح Whatman رقم 1 وعدل الاس الهيدروجيني له إلى 7 وحفظ بالتجميد (على-18) .

غسل الكازين المترسب بالماء المقطر ثلاث مرات ، واذيب الكازين بالماء المقطر مع اضافة NaOH (M1) لرفع الاس الهيدروجيني إلى 7 . واعيد ترسيب الكازين باستخدام HCl وفصل الراسب بالنبذ المركزي واعيدت عملية الاذابة والترسيب مرة اخرى وحفظ الكازين الناتج بالتجميد .

تم احداث فرط الحساسية في الفئران تجاه بروتينات حليب البقر باستخدام الطريقة التي ذكرها Poulsen وجماعته (12) لتحفيز الفئران على انتاج الكلوبيولين المناعي نوعIgE ثم قسمت الحيوانات إلى مجموعتين الاولى تم اجراء فحص صدمة فرط الحساسية العام (Systemic Anaphylaxis) لها بعد 15 يوما من احداث فرط الحساسية عن طريق حقن جرعة التحدي في الوريد الذنبي للفئران ومتابعة التغيرات المظهرية الحاصلة للحيوانات خلال 30 دقيقة . اما المجموعة الثانية فقد استخدمت لاجراء فحص ازالة التحبب من الخلايا البدينة اذ تم سحب الخلايا الموجودة في تجويفها الخلبي باستخدام طريقة Mota و Dias da Silva (9). تم معاملة هذه الخلايا بالحليب والكازين والشرش المعامل بدرجات حرارية مختلفة باستخدام الطريقة التي ذكرها Shelley و Juhlin (14). ثم تصبيغ الخلايا البدينة بواسطة صبغة Toluidine blue وحسب ما ذكره Richard و Lagunoff (13) وحسبت النسبة المئوية للخلايا الفاقدة للتحبب باستخدام المجهر الضوئي على قوة تكبير 10 × 100 .

النتائج والمناقشة

دراسة فرط حساسية حليب البقر والماعز :

استخدمت طريقة صدمة فرط الحساسية في الفئران لدراسة فرط حساسية بروتينات حليب البقر والماعز اذ تم حقن الفئران المصابة بفرط حساسية بروتينات حليب البقر بمادة التحدي وملاحظة التغيرات المظهرية الحاصلة عليها .

يلاحظ من جدول (1) ان صدمة فرط الحساسية في الحيوانات التي حقنت بحليب الماعز كانت اقل من نظيراتها التي حقنت بحليب البقر ، يمكن تفسير ذلك بالاختلافات في تركيب بروتينات حليب الماعز عن نظيراتها البقرية اذ يختلف تركيب كل من الفا أس كازين وكابا كازين وبيتا لاكتوكلوبيولين حليب الماعز عن نظيراتها البقرية مما يؤدي الى اختلاف درجة احداثها لصدمة فرط الحساسية (15) .

جدول 1. فحص نتائج صدمة فرط الحساسية في الفئران المصابة بفرط حساسية حليب البقر عند اجراء فحص التحدي ببروتينات حليب البقر والماعز .

مادة التحدي	نتيجة فحص صدمة فرط الحساسية *	
	حليب البقر	حليب الماعز
حليب خام	+ +	+
شرش	+ + +	+ +
كازين	+ + +	+ + +
محلول ملحي فسلجي	–	–

* – لم يلاحظ أي تأثير

+ الحيوان يكون بطيئا ويتحرك فقط اذا استفز

+ + الحيوان ثابت ولا يتحرك حتى اذا استفز

+ + + يتعرض الحيوان إلى حصول تقلصات وتشنجات غير ارادية

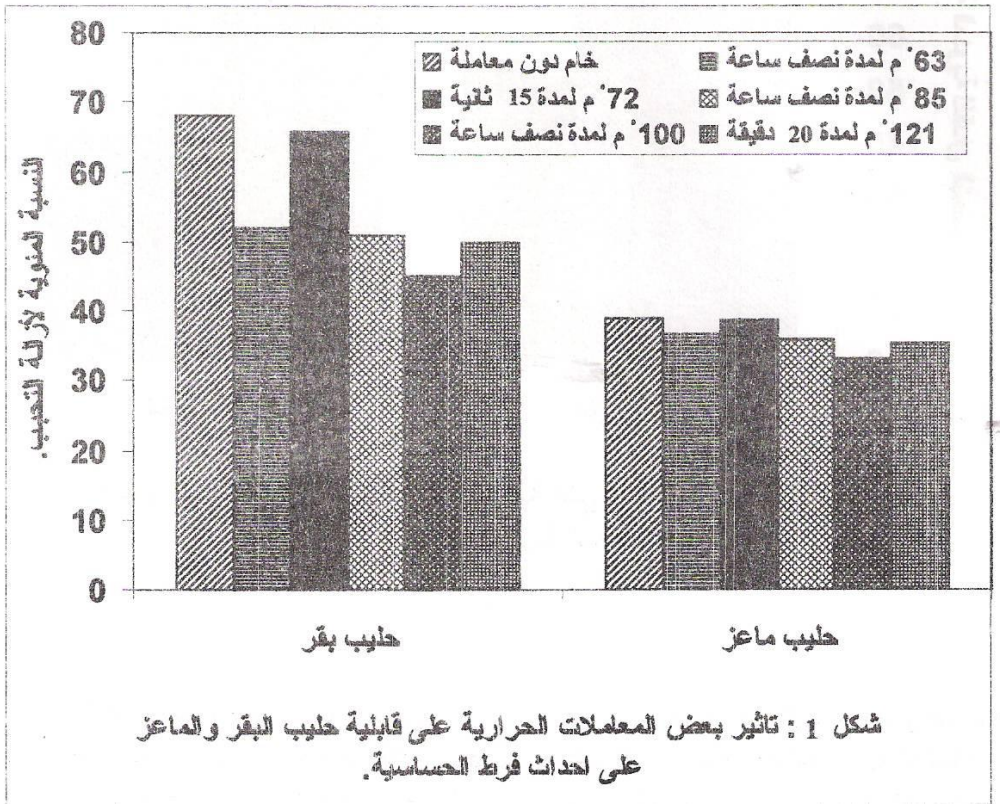
اما بالنسبة لبروتينات الشرش فيلاحظ ان شرش حليب الماعز اقل تأثيراً في احداث فرط الحساسية مقارنة بشرش حليب البقر (جدول 1) ، ويعود سبب هذا الفرق في احداث فرط الحساسية إلى اختلاف تركيب بيتا كتوكلوبيولين حليب الماعز عن نظيرها البقري (1) بالمقابل تساوت قابلية كازين حليب الماعز والبقر على احداث فرط الحساسية في الفئران ، اذ ادى حقن كل منهما إلى حصول تقلصات وتشنجات غير ارادية في الحيوانات .

مما سبق يمكن الاستنتاج ان الكازين هو المسبب الاساسي لفرط حساسية الحليب وهذا يؤيد ما وجده Decena وجماعته (2) .

دراسة تأثير بعض المعاملات الحرارية على فرط حساسية بروتينات حليب البقر والماعز:

استخدم فحص ازالة التحبب من الخلايا البدينة لبيان مدى تأثير بعض المعاملات الحرارية على قابلية حليب وشرش وكازين حليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية .

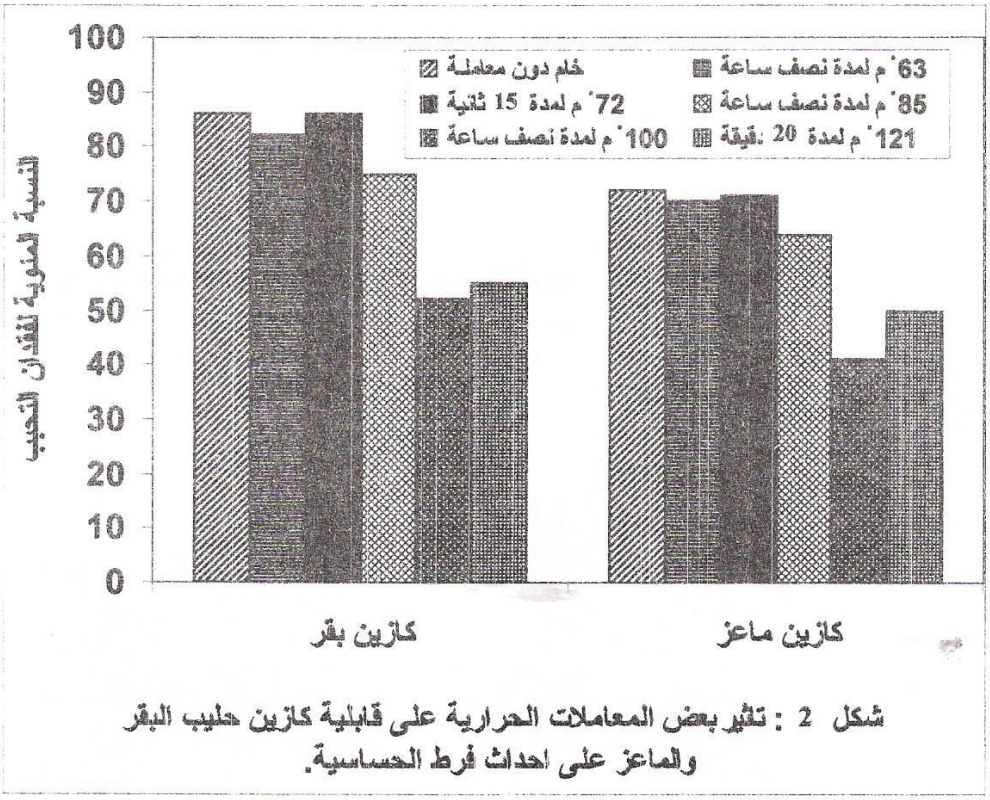
يلاحظمن شكل (1) ان حليب البقر الخام (غير المعامل حراريا) كان اكثر قابلية على ازالة التحبب من الخلايا البدينة مقارنة بحليب الماعز الخام وهذا يتفق مع ما وجده McLaughlan وجماعته (8) ، كما ان هذه النتيجة تؤيد ما ذكره Gjesing وجماعته (3) من وجود تفاعلات مناعية مشتركة بين بروتينات حليب البقر والماعز.



شكل 1 : تاثير بعض المعاملات الحرارية على قابلية حليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية.

انخفضت النسبة المئوية لازالة التحبب في الخلايا البدينة بزيادة شدة المعاملة الحرارية المستخدمة للحليب مما يدل على انه كلما زادت شدة المعاملة الحرارية قلت قابلية بروتينات الحليب على احداث فرط الحساسية . وكان تأثير البسترة البطيئة اعلى من تأثير البسترة السريعة في حليب البقر والماعز على حد سواء اذ ادت إلى انخفاض اكبر في النسبة المئوية لازالة التحبب . وقد ادت المعاملة 100°م لمدة ½ ساعة إلى اعلى نسبة انخفاض في قابلية الخلايا البدينة على فقدان التحبب ولحليب البقر والماعز على حد سواء ويعود سبب ذلك إلى ان هذه المعاملة ادت إلى حصول عملية مسخ لبروتينات شرش الحليب مما ادى إلى فقدان قابليته على احداث فرط الحساسية (4) .

وبشكل عام لم تؤد المعاملات الحرارية المختلفة المستخدمة في هذا البحث إلى خفض كبير وملحوظ في قابلية بروتينات حليب البقر والماعز على ازالة التحبب من الخلايا البدينة . وقد تمت ملاحظة نفس النتيجة عند استخدام المعاملات الحرارية على كازين حليب البقر والماعز (شكل 2).



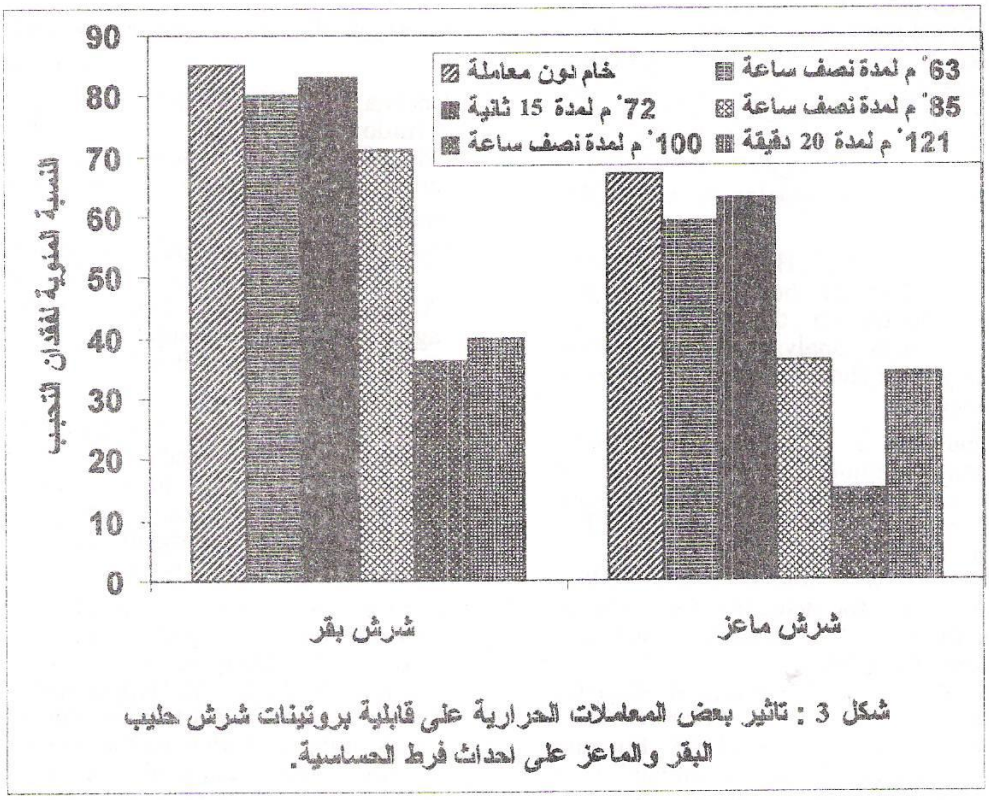
شكل 2 : تأثير بعض المعاملات الحرارية على قابلية كازين حليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية.

اذ لم تؤدي المعاملة على 63° م لمدة ½ ساعة و 72°م لمدة 15 ثانية او 85°م لمدة ½ ساعة إلى تغير كبير في قابلية كازينات حليب البقر والماعز على ازالة التحبب من الخلايا البدينة ويعود سبب ذلك إلى التركيب الفراغي العشوائي للكازين والذي يسمح له بمقاومة درجات الحرارة المتوسطة كالبسترة (8) وهذه النتيجة توافق ما وجده باحثون آخرون (6 و8).

بينما ادت معاملة كازين حليب البقر والماعز على 100°م لمدة ½ ساعة و 121°م لمدة 20 دقيقة إلى انخفاض كبير في حصول فرط الحساسية نتيجة لانخفاض النسبة المئوية لفقدان التحبب من الخلايا البدينة ويمكن تفسير ذلك بالتغيرات الحاصلة في التركيب الفراغي للكازين نتيجة للحرارة العالية المستخدمة في هذه الحالة لكن بالرغم من ذلك فقد

احتفظ كل من كازين حليب البقر والماعز على نسبة لا بأس بها من قابليتها على احداث فرط الحساسية .

اعطت المعاملات الحرارية افضل قابلية لها في خفض حدوث فقدان التحبب وبالتالي خفض حدوث فرط الحساسية عند استخدامها مع الشرش (شكل 3).



شكل 3 : تاثير بعض المعاملات الحرارية على قابلية بروتينات شرش حليب البقر والماعز على احداث فرط الحساسية.

يلاحظ من الشكل (3) ان شرش حليب الماعز الخام كان اقل قابلية على ازالة التحبب من الخلايا البدينة مقارنة مع شرش حليب البقر الخام ويعود سبب ذلك إلى الاختلاف في تركيب البروتينات الموجودة في كل منهما وخصوصا البيتا لاكتوكلوبيولين (5) .

كان تأثير المعاملات الحرارية 63°م لمدة ½ ساعة و 72°م لمدة 15 ثانية قليل في خفض النسبة المئوية لفقدان التحبب ولشرش البقر والماعز على حد سواء .

بينما لوحظ ان المعاملة على 85°م لمدة ½ ساعة ادت لحصول انخفاض كبير في قابلية بروتينات شرش الماعز على احداث فقدان التحبب بينما كان تأثير هذه المعاملة كان اقل في شرش الحليب البقري (شكل 3) .

كانت المعاملة 100°م لمدة ½ ساعة هي الاكثر قدرة على خفض النسبة المئوية لفقدان التحبب عند معاملة الخلايا البدينة مع شرش البقر ويعود سبب هذا الانخفاض إلى فقدان بروتينات الشرش لتركيبها الفراغي ثلاثي الابعاد نتيجة كسر الاواصر الكارهه للماء (hydrophobic)(6) . تم الحصول على اقل نسبة فقدان تحبب عند معاملة بروتينات شرش حليب الماعز على 100°م لمدة ½ ساعة اذ انخفضت نسبة فقدان التحبب إلى 15% فقط ، وهي نسبة مقبولة جدا اذا ما قورنت مع ما ذكره Mota و Dias DaSilva (9) من ان حدوث فرط الحساسية حسب الطريقة المستخدمة في هذا البحث يتطلب فقدان التحبب من 50% من الخلايا البدينة المصبغة .

وقد اعطت المعاملة 121°م لمدة 20 دقيقة لشرش حليب الماعز نتيجة مقبولة ايضا لكن نسبة فقدان التحبب في الخلايا البدينة كانت اعلى من المعاملة 100 °م لمدة ½ ساعة .

ان هذه النتيجة تبين امكانية الاستفادة من شرش حليب الماعز في انتاج تركيبة حليب اطفال غير

مسببة لفرط الحساسية عن طريق معاملتـــه باســـتخدام المعاملة الحرارية المناسبة .

المصادر

1-السعدي ، جاسم محمد صـــالح . 2001 . دراســـة بروتينات حليب الماعز والبقـــر وعلاقتـــها بفـــرط الحساسية . اطروحة دكتوراه – كلية الزراعـــة – جامعة بغداد .

2-Docena, G. W, R. Frenandez, F. G. Chirdo and C. A. Fossati. 1996. Identification of casein as the major allergenic and antigenic protein of cow's milk. Allergy 51:412.

3-Gjesing, B., 0. Osterballe, B. Schwarts, U. Wahn and H. Lowenstein. 1986. Allergen- specific IgE antibodies against antigenic components in cow milk and milk substitutes. Allergy, 41: (1): 51.

4-Heppell, L. M. J., A. J. Cant and P. J. Kilshaw. 1984. Reduction in the antigenicity of whey proteins by heat treatment: a possible strategy for producing a hypoallergenic infant milk formula. Br. J. Nutr. 51: 29.

5-Jenness, R. 1980. Composition and characteristics of goat milk: review 1968-1979. J. Dairy Sci. 63: 1605

6-Kilshaw, P. J., L. M. Heppell and J. E. Ford. 1982. Effect of heat treatment of cow's milk and whey on the nutritional quality and antigenic properties. Archives of Disease in Childhood 57:842.

7-Lebenthal, E. 1975. Cow's milk protein allergy. Pediatr. Clin. North Am. 22: 827.

8-McLaughlan, P., K. J. Anderson, E. M. Widdowson and R. R. A. Coombs. 1981. Effect of heat on the anaphylactic- sensitising capacity of cow's milk, goat'smilk and various infant formulae fed to guinea pigs. Archives of Disease in Childhood 56: 165.

9-Mota, I. and Dias da Silva. 1960. Antigen-induced damage to isolated sensitized mast cells. Nature 186: 245

10-Park, Y. W. 1994. Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. Small Ruminant Research 14: 151.

11-Perlman, F. 1977. Food allergens. In " Immunological Aspects of Foods". edited by Catsimpoolas, N. AVI Plubl. Co. USA.

12-Poulsen, 0. M., J. Hau and J. Kollerup. 1987. Effect of homogenization and pasteurization on the allergenicity of bovine milk analysed by a murine anaphylactic shock model. Clin. Allergy 17: 449.

13.Richard, A. L. and D. Lagunoff. 1989. Protein malnutrition: effect on rat peritoneal mast cell number, histamine content and IgE receptors. Am. J. Clin. Nutr. 49:641.

14.Shelley , W.B. and L. Juhin . 1961. Anew test for detecting anaphylactic sensitivity : The basophil reaction . Nature 191 :1056.

15.Wal, J. M., H. Bernard, M. Won, G. Peltr, B. David; C. Creminon, Y. Frobert and J. Grassi.1995. Enzyme Immunoassay of specific human IgE to purified cow's milk allergens. Food & Agric. Immunol. 7:175.

16.Zittle. C. A. and J. H. Custer. 1966. Identification of the k-casein among the components of whole goat milk. J. Dairy Sci.49:788.