



طرق حماية الأحماض الأمينية واستغلالها كإضافات غذائية للحيوان المجتر

إعداد

الأستاذ الدكتور محمد أبوهيف

قسم الإنتاج الحيواني – كلية علوم الأغذية والزراعة

جامعة الملك سعود

تختلف الحيوانات بدرجة كبيرة في شكل وتركيب جهازها الهضمي وكذلك في نوعية الأغذية التي تتناولها ، وبالرغم من ذلك التباين فإن الوظيفة النهائية متشابهة وتتمثل في هضم وامتصاص العناصر الغذائية والتخلص من الفضلات الغير مهضومة. وتمتلك الحيوانات اللاحمة وآكلات اللحم والعشب على معدة حقيقية بسيطة التركيب تفرز كل من حمض الكلور وبادئ أنزيم البيسين وتسمى بالحيوانات وحيدة المعدة، بينما المعدة في الطيور تختلف من حيث أنها تتكون من ثلاث أجزاء هي الحوصلة لتخزين وترطيب الغذاء وإتمام بعض التخمر عليه ثم المعدة الحقيقية وأخيرا القانصة والتي تقوم بطحن وتفطيت الغذاء، وهذه الأجزاء كلها مجتمعة تقوم بوظيفة كل من الأسنان والمعدة الحقيقية في الحيوانات وحيدة المعدة. ويختلف الوضع في الحيوانات آكلة العشب حيث تحور الجهاز الهضمي فيها بشكل معقد وبحيث يمكنها من الاستفادة بالسليولوز والهيميسليولوز النباتي كمصدر أساسي للطاقة بدلا من الجلوكوز في حالة الحيوانات وحيدة المعدة، وعملية تحويل الألياف السليولوزية و الهيميسليولوزية إلى أحماض دهنية طيارة أو كمصدر للطاقة يتم بواسطة الأنزيمات المحللة والتي تقوم بإنتاجها كميات كبيرة من البكتريا المتخصصة والفطريات المتواجدة في جهازها الهضمي. ومعدة الحيوانات المجتررة تمثل احد هذه التحورات حيث تتكون من أربع أجزاء هي: الكرش، الشبكية، الورقية و الأنفحة، والكرش هو أكبر تلك الأجزاء ويشغل حوالي ثلاثة أرباع الفراغ البطني ويسع لحوالي 30-60 جالون من السوائل في البقرة الناضجة ويتم بداخله التخمر الميكروبي على الغذاء، ويفصل بين الكرش والشبكية ثنية جلدية تسمح بمرور الكتلة الغذائية بينهما بحرية ثم يمر الغذاء في الورقية وأخيرا في الأنفحة والتي تماثل وظائفها المعدة الحقيقية في الحيوانات وحيدة المعدة (Church 1976).

وعند تناول الغذاء يقوم الحيوان المجتر بمضغه وهذه العملية تنبه من إفراز اللعاب، وقد دلت بعض الدراسات أن البقرة الواحدة تنتج ما يعادل 45 لتر من اللعاب يوميا يصل أغلبها إلى الكرش، واختلاط الغذاء الممضوغ باللعاب يسهل من بلعه بالإضافة إلى أن اللعاب يحتوي على الكثير من العناصر المعدنية واليوريا والتي تحتاجها ميكروبات الكرش في النمو والتكاثر. ويحتوى اللعاب كذلك على أملاح بيكربونات وفوسفات الصوديوم والتي تنظم تركيز أيون الهيدروجين لسوائل الكرش من الأحماض الدهنية الطيارة التي تكونها بكتريا الكرش. ويتميز سائل الكرش في المجترات بوجود أعداد كبيرة

ومتنوعة من البكتريا (16.2-40.8 مليون/مل) والبروتوزوا (200.000-2 مليون/مل) والفطريات، وهذه الميكروبات تتباين في أعدادها بدرجة واسعة بناء على نوع الغذاء المأكول وكميته وطريقة إعداده وكذلك على الظروف البيئية السائدة، وقد وجد أن نسبة البروتوبلازما الميكروبية قد تصل في بعض الظروف المواتية إلى حوالي 10% في سائل الكرش. ويوفر الكرش البيئة المثالية لنمو هذه الميكروبات من حيث درجة تركيز أيون الهيدروجين (6.2-6.8) ودرجة الحرارة بحدود (39-41 م°)، وهذه الظروف مجتمعة تعمل على تفعيل نشاط الأنزيمات الميكروبية في تخمر وتحلل مكونات الغذاء المأكول إلى عناصره البسيطة (Hungate, 1966).

هضم البروتين في الكرش

عند وصول البروتين الغذائي إلى الكرش فإن جزءا منه يقاوم الهجوم الميكروبي ويذهب سليما إلى الأنفحة ويستفاد منه بنفس الطريقة المعروفة كما هو الحال في الحيوانات وحيدة المعدة، وتختلف نسبة هذا البروتين المقاوم في مختلف الأغذية الحيوانية بناء على درجة ذوبان البروتين، قوة الروابط بين الأحماض الأمينية ومقاومتها للكسر، حجم حبيبات الغذاء المأكول و على معدل مرور الغذاء من الكرش إلى باقي أجزاء المعدة المركبة. وباقي بروتينات الغذاء والتي تمثل في المتوسط حوالي 40-75% من إجمالي البروتين المأكول فإنها تهاجم بميكروبات الكرش وتحولها إلى سلاسل من البوليببتيدات ثم إلى أحماض أمينية يصل أعلى تركيز لها في سائل الكرش بعد 60 دقيقة من تناول الغذاء، ومع مرور الوقت يتم نزع مجاميع الأمين من الأحماض الأمينية وتتحول إلى الأمونيا، ويصل تركيز الأمونيا في سائل الكرش إلى أعلى مستوى له بعد التغذي بحوالي 90-130 دقيقة. وتتوقف سرعة تحول البروتين إلى أحماض أمينية على درجة ذوبان هذا البروتين في الكرش بينما سرعة تحول الأحماض الأمينية إلى أمونيا فهي انعكاس لنسبة البروتين في عليقة الحيوان. وتمثل البكتريا المسؤولة عن التحلل البروتيني حوالي 10-38% فقط من إجمالي ميكروبات الكرش، وبصورة عامة فإن أغلبية بكتريا الكرش تفضل الأمونيا كمصدر للنيتروجين للنمو وتخليق البروتينات البكتيرية وعلى العكس من ذلك فإن بروتوزوا الكرش وأغلبها من السوطيات لا تستخدم الأمونيا كمصدر رئيسي للنيتروجين بل أنها تبتلع البكتريا وجزئيات الغذاء الدقيقة والأحماض الأمينية وقواعد البيورين والبريميدين

كمصدر للمواد النيتروجينية اللازمة للنمو والتكاثر. ومعظم أنواع البكتريا لها احتياجات محددة من الأمونيا لكي تنمو وتتكاثر بكفاءة وباقي الأمونيا فإن معظمها يتم امتصاصه من جدار الكرش والشبكية ويذهب إلى تيار الدم والجزء القليل المتبقي فإنه يمر إلى الأمعاء حيث يمتص هناك، وتحمل الأمونيا بواسطة تيار الدم إلى الكبد حيث يتم تحويلها إلى يوريا، وهذه اليوريا تذهب مع تيار الدم إلى الكرش مرة أخرى عبر جدرانه وجزء من اليوريا يفرز مع اللعاب وجزء آخر يفرز مع البول (Church, 1976; Orskov, 1992).

عند وصول الكتلة الغذائية وما تحتويها من أعداد ضخمة تتعدى مئات البلايين من الخلايا الميكروبية إلى الأنفحة (المعدة الحقيقية) يتم خلطها مع حمض الكلور المفرز من الجدار لتنشيط الأنزيمات الهاضمة والتي تعمل على تكسير البروتين وتحواله إلى ببتيدات وأحماض أمينية تمتص عبر جدار الأنفحة والأمعاء الدقيقة وينقلها تيار الدم إلى خلايا وأنسجة جسم الحيوان ليستفيد بها في النمو وإنتاج اللبن. وهذه الأحماض الأمينية الممتصة جزء منها يرجع أصله إلى الغذاء المأكول و المقاومة لهجوم ميكروبات الكرش والجزء الآخر ذو أصل ميكروبي تم تخليقه في الكرش. وبصورة عامة فإن نوعية الأحماض الأمينية الممتصة تكون أفضل إذا كانت نسبة أكبر منها ترجع إلى أصول غذائية، فعلى سبيل المثال إذا غذيت بقرة على بروتين غذائي غير مقاوم للتخمير الميكروبي وتحلل كلياً في الكرش فإنه في هذه الحالة تكون كل الأحماض الأمينية المتوفرة لعملية الامتصاص ذات أصل ميكروبي، وعلى العكس من ذلك فإذا تغذت بقرة على بروتين جزء منه مقاوم والآخر سهل التحلل في الكرش فإنها في هذه الحالة يتوفر لها مدى متنوع و أفضل من الأحماض الأمينية ذات الأصول الغذائية والميكروبية. وأثبتت الدراسات أنه مهما اختلف المصدر البروتيني المأكول فإن ميكروبات الكرش تستفيد منه وتحواله إلى بروتين ميكروبي ثابت في تركيبه ومحتواه من الأحماض الأمينية، ولهذا السبب يستفاد في تغذية الحيوانات المجترة بأنواع من البروتين أقل في الجودة حيث أن الناتج النهائي واحد تقريباً. وتصل نسبة البروتين الخام في بكتريا الكرش إلى 58-77% بينما تصل هذه النسبة إلى 24-29% في البروتوزوا، وبالرغم من أن البروتين الميكروبي يعد من البروتينات الحيوانية الممتازة إلا أن محتواه يعانى من نقص طفيف في بعض الأحماض الأمينية الضرورية في تغذية الحيوانات مثل أحماض الميثونين ،

السستين، الليسين و الثريونين، ولا يظهر تأثير هذا النقص في حالة الحيوانات متوسطة الإنتاج ولكنه يكون واضحا وذو تأثير سلبي عند تغذية الحيوانات عالية الإنتاج (Tao *et al.*, 1974; Orskov, 1992).

عندما يصل تركيز أيون الهيدروجين لكتلة الغذاء في الأنفحة إلى القيمة 2 الحمضية يتم تحرك الغذاء إلى الأمعاء الدقيقة عبر فتحة البواب المعدية، وقد وجد أن زيادة كمية الغذاء الداخلة إلى الأنفحة تؤدي إلى زيادة ملحوظة في الكتلة الغذائية الخارجة من الأنفحة وإلى الأمعاء الدقيقة وكذلك إلى زيادة في كمية حمض الكلور التي تفرزها الأنفحة يوميا والتي قدرت بحوالي 30-35 لتر في الأبقار الناضجة وحوالي 5-6 لتر في الغنم، ويصل حمض الكلور وأنزيم الببسين إلى أعلى تركيز لهما في الأنفحة بعد حوالي 45-90 دقيقة بعد التغذية. وداخل الأمعاء الدقيقة والتي يصل طولها إلى حوالي 37-42 مترا يتم استكمال الهضم الأنزيمي وامتصاص الأحماض الأمينية. وبالرغم من أن جميع الدراسات تفترض أن هضم وامتصاص المواد النيتروجينية في الأمعاء الدقيقة لكل من الحيوان المجتر والحيوان وحيد المعدة متشابهة إلا أنه في حالة الحيوان المجتر هناك بعض الاختلافات والتي يمكن أجمالها فيما يلي:

- 1- البروتينات المختلفة للغذاء تتحول كلها بواسطة ميكروبات الكرش إلى بروتين ميكروبي متجانس بدرجة كبيرة في تركيبه من الأحماض الأمينية وان أغلبية الكربوهيدرات يتم تحللها ويتبقى منها جزء صغير في الأمعاء.
- 2- إفرازات الأنفحة الحمضية هي عملية مستمرة ولذلك فإن محتوى الأمعاء الدقيقة يكون بصورة دائمة حمضي خاصة في منطقة الأثني عشر.
- 3- مرور كتلة الغذاء من الأنفحة إلى الأثني عشر وباقي الأمعاء الدقيقة عملية مستمرة ولا تتوقف في الحيوانات المجتر وأنها متجانسة في التركيب الكيميائي بغض النظر عن اختلاف طبيعة الغذاء المأكول.
- 4- الكميات الكبيرة من السوائل والأملاح المعدنية المفترزة في اللعاب و العصارات الهاضمة يعاد امتصاصها مرة أخرى وبكفاءة عالية في كل من الأمعاء الدقيقة والأمعاء الغليظة.

ونظرا لكل هذه العوامل فإنه من المحتمل أن تكون عملية امتصاص المواد الغذائية المهضومة وخاصة المواد البروتينية في الحيوان المجتر تختلف ولو قليلا عنها في الحيوان وحيد المعدة، وهذا الافتراض لا يوجد حتى الآن ما يؤكد أو يعارضه من الدراسات. وقد أوضحت الدراسات في هذا المجال أن عملية هضم البروتين تستمر في الجزء الأول من الأمعاء الدقيقة وحتى مسافة 7 أمتار من فتحة البواب، بينما المنطقة الوسطى من الأمعاء يتركز فيها الامتصاص بدرجة كبيرة، ولوحظ أن الأحماض الأيزوليوسين، الأرجنين، الميثونين و الفالين يتم امتصاصها بمعدلات سريعة عن أية أحماض أمينية أخرى بينما حمض الجلوسين يعتبر من أبطأ الأحماض الأمينية في الامتصاص (Blackburn, 1965; McGilliard, 1972).

الأحماض الأمينية الضرورية في تغذية المجترات

لتمثيل الغذائي للبروتين في أنسجة أغلب الحيوانات لا يختلف في أساسياته، فالمجترات مثل الحيوانات وحيدة المعدة تستفيد من الأحماض الأمينية إذا كانت على الصورة L-isomer بدرجات تفوق تلك الموجودة على الصورة D-isomer ، ولهذا السبب فإنه من المعتقد أن الاحتياجات الغذائية من الأحماض الأمينية المختلفة في كلا النوعين من الحيوانات لا يختلف، وفي الآونة الأخيرة زاد الاهتمام بتحديد الاحتياجات من مختلف الأحماض الأمينية في المجترات بالرغم من المشاكل التي تواجه هذا النوع من الدراسات حيث انه من الصعب تحديد درجة التحلل والتخمر الغذائي في الكرش وكمية البروتين الميكروبي المنتجة والتي سوف تمر إلى الأنفحة. وقد دلت الدراسات انه تحت ظروف غذائية متباينة فإن كمية الأحماض الأمينية المارة من الكرش إلى باقي الجهاز الهضمي سواء كان مصدرها الغذاء أو ميكروبات الكرش غير كافية لإمداد الحيوان بالبروتينات اللازمة لإنتاج عالي. وقد أوضح كل من Downes (1961) and Buttery (1978) أن الأحماض الأمينية الضرورية في تغذية المجترات هي الليسين، الميثونين، الليوسين، الأيزوليوسين، الثريونين، الفالين و الأرجنين، وقد وضع تصورا عاما كما يلي:

1- الأحماض الأمينية التالية لا يتم تخليقها في الأنسجة: الليسين، الهستيدين، الليوسين، الفالين، الميثيونين، الشريونين و التريتوفان.

2- الأحماض الأمينية التالية تخلق من أحماض أمينية أخرى: التيروسين ويخلق من الفيل آلانين و كذلك السستين ويخلق من الميثيونين.

3- الحمض الأميني الجلوسين يعتبر في أغلب الأحوال من الأحماض الغير ضرورية.

4- أحماض أمينية يحتاج إليها الحيوان بكميات إضافية لان المخلق في الجسم غير كافي مثل الأرجين خاصة في الحيوانات سريعة النمو أو مثل الحمض الأميني البرولين والتي يحتاج إليه الحيوان إذا كان معدل تخليقه من الحمض الجلوتامين غير كافي.

أوضحت الدراسات أن كل من حمضي الليسين و الميثيونين من أهم الأحماض الأمينية التي يحتاجها الحيوان المجتر لتخليق البروتينات اللازمة للنمو و الإنتاج، وتقدر أهمية الحمض من خلال تقدير التركيز النسبي له في البروتين المقاوم لميكروبات الكرش، فمثلا حمض الليسين هو أهم حمض عندما تكون الذرة في غذاء الحيوان هي المصدر الرئيسي للبروتين المقاوم للميكروبات، بينما الميثيونين يكون هو أهم حمض أميني عندما يكون المصدر الرئيسي للبروتين المقاوم من أعلاف بقوليه أو عندما يكون البروتين المقاوم لميكروبات الكرش في الغذاء قليل الكمية. وبصورة عامة فإن الذرة فقيرة في محتواها من الليسين وغنية في الميثيونين بينما البقوليات ومصادر الغذاء ذات الأصل الحيواني فقيرة في الميثيونين وغنية في محتوى الليسين، وتقدر نسبة كل من الليسين و الميثيونين التي تحتاجها الحيوانات المجتره كنسبه من إجمالي الأحماض الأمينية الضرورية ب 14.7 و 5.3% على التوالي. وقد دلت التجارب أن التغذية على الليسين و الميثيونين المضخوخان إلى الأنفحة مباشرة دون المرور في الكرش أو الليسين و الميثيونين المحميين تعمل على خفض احتياجات الحيوان من بروتين الغذاء اللازم للإنتاج وهذا يعمل على إفساح مجال يستغل في إعطاء الحيوان كميات اكبر من الغذاء والطاقة، بالإضافة إلى ذلك فهما يعملان على زيادة كفاءة تخليق البروتين وزيادة امتصاصه واستغلاله في الجسم، زيادة معدل النمو في الأبقار، زيادة نمو الصوف والشعر في الغنم و الماعز، وفي الأبقار تعطي زيادة ملحوظة في كمية الحليب و البروتين والدهن خاصة عندما تكون في بداية موسم الحليب وتكون استجابتها أفضل في حالة الأبقار عالية الإنتاج عن تلك

منخفضة الإنتاج (Merchen and Titgemeyer 1992; Schwab *et al.*, 1993). وهناك فوائد أخرى للتغذية على الليسين و الميثيونين، فقد لاحظ (Durand *et al.* (1992) زيادة في قدرة الكبد لإفراز الجلسريد الثلاثي الغنية في LDL عندما أعطي الحيوان 20 جم من الليسين و10 جم من الميثيونين يوميا حقنا في الوريد الأحشائي للأبقار في بداية موسم الحليب، وقد لوحظ أيضا انخفاض المشاكل الغذائية و الميتابولزمية والتي تصاحب الأبقار بعد الولادة عندما تغذى الميثيونين و الليسين المحمي لمدة أسبوعان قبل الولادة ولمدة 4 أسابيع في بداية موسم الحليب. إضافة حمض الأرجنين إلى غذاء الحيوانات أعطى تحسن واضح في معدلات نموها، وقد أوضحت العديد من الدراسات أنه بالرغم من إن المجترات قادرة على إنتاج كميات كبيرة من حمض الأرجنين داخل الكبد كجزء من دورة اليوريا إلا انه لا يصل إلى تيار الدم بكميات كافية لاحتياجات الأنسجة ويكون هناك دائما نقص منه خاصة في الحيوانات عالية الإنتاج، ولذلك فإنه يمكن القول بأن المجترات تحتاج إلى إضافات غذائية من هذا الحمض في غذائها (Tao *et al.*, 1974). وبصورة عامة فإن تصحيح نقص الاحتياجات من الأحماض الأمينية الضرورية للمجترات يكون إما بتغذية الحيوان على بروتينات مقاومة لهجوم ميكروبات الكرش أو بالتغذية على أحماض أمينية محمية من التخمر الميكروبي.

طرق حماية الأحماض الأمينية من الهجوم الميكروبي في الكرش

تتعدد فوائد إضافة الأحماض الأمينية المحمية إلى غذاء المجترات خاصة في الحالات التي تكون فيها العليقة الغذائية المقدمة فقيرة في اتران الأحماض الأمينية الممتصة نسبة إلى الطاقة المتوفرة، أو عندما تغذى الحيوانات على أعلاف المرعى والسيلاج أو الدريس المعروف عنها بسهولة تخمر البروتين أو عندما يريد المربي الاعتماد على مصادر نتروجينية غير بروتينية سريعة التخمر مثل اليوريا و الأمونيا وتقليل الاعتماد على مصادر البروتين التقليدي. ويجب القول أيضا أن المربي يحتاج إلى إضافة الأحماض الأمينية المحمية إلى الغذاء خاصة إذا كانت حيواناته من النوع عالي الإنتاج. وتختلف طرق حماية الأحماض الأمينية بدرجة كبيرة ولكن من الضروري أن تكون هذه الطرق لا تعوق من الاستفادة بالحمض الأميني في المناطق التالية للكرش بالجهاز الهضمي، وقد لاحظ العديد من الدارسين أن نجاح

أية طريقة لحماية أحد الأحماض الأمينية يمكنها أن تنجح تجاريا ويمكن تعميمها وتطبيقها مع باقي الأحماض الأمينية الأخرى.

1- المعاملات الحرارية للأحماض الأمينية:

استخدمت هذه الطريقة لأول مرة بواسطة *Chalmers et al. (1954)* وأصبحت شائعة التطبيق لجعل بروتين الغذاء مقاوما للتخمر الميكروبي في الكرش، وتشمل هذه المعاملة الحرارية على عملية التحميص أو الطبخ بواسطة الأشعة الحمراء. وأشهر الأغذية التي تعامل حراريا هي الكازين ومسحوق السمك المجفف ومسحوق اللحم المجفف ومساحيق الحبوب الزيتية، وهذه الطريقة غالبا تحسن طعم الغذاء. وميكانيكية عمل المعاملة الحرارية تتلخص في تكوين روابط متشابكة تجعل البروتين أكثر مقاومة للتحلل الميكروبي، ويسمى هذا التفاعل بتفاعل ميلارد *Millard* المتتالي والذي يتم بين مجموعة الأمين وخاصة الموجودة في حمض الليسين الأميني ومجموعة الكاربونيل الموجودة في السكريات المختزلة مثل سكر الجلوكوز و الفركتوز والبنروز، وقد يتم هذا التفاعل أيضا مع أحماض أمينية أخرى مثل السستين ولكن بدرجة أقل عن حمض الليسين. ويبدأ هذا التفاعل بتكوين ما يسمى بقاعدة شيف *Schiff's base* ثم يتبعها بتكوين ما يسمى بمنتج أمادوري ويصاحب ذلك تلون المركب باللون البني، والنتيجة عن ذلك التفاعل منتجات وسطية للحمض الأميني لها نفس القيمة البيولوجية للحمض الأميني الحر (*Finot et al., 1977*)، و ينجم بعد ذلك تفاعلات أخرى تكون مركبات كربونيلية مبلمرة ترتبط مباشرة مع مجاميع الأمين لمختلف سلاسل البولي بيتيد مؤدية في النهاية إلى العديد من الروابط المتشابكة بين الكربوهيدرات والبروتين ويسمى مركب *Protein-Carbohydrate Polymer* وهو ذو معامل هضم منخفض في الحيوانات. وقد وجد أن الليسين أيضا يمكنه أن يتفاعل مع الدهون المتأكسدة أثناء المعاملة الحرارية، وكذلك فإن السستين يمكنه أن يتكثف بالحرارة منتجا مركب اللانثيونين، والمعاملة الحرارية بصورة عامة تكون روابط متشابكة داخل سلاسل البولي بيتيد وتؤدي إلى تكوين مركبات مقاومة للتحلل الأنزيمي الميكروبي (*Feeney, 1977*).

والمعاملة الحرارية للبروتين لها أعراض جانبية ضارة لأنها تؤدي إلى نقص في بعض الأحماض الأمينية وأنها تتسبب في جعل باقي الأحماض الأمينية ذات معامل هضم منخفض بدرجة قليلة في الأمعاء. وقد استطاع العالم (Parsons et al. (1992 أن يقيم تأثير المعاملة الحرارية الرطبة "الأوتوكلاف" عند درجة حرارة 121م وضغط 1.1 كجم/سم² على مسحوق فول الصويا ولفترات صفر، 20، 40، 60 دقيقة، وقد لاحظ أن بزيادة فترات المعاملة الحرارية فإن تركيز الأحماض الأمينية الليسين والسستين والأرجنين قد انخفضت وان أكبر انخفاض كان في حالة حمض الليسين والذي انخفض بمقدار 22٪ بعد 60 دقيقة من المعاملة، وان معامل الهضم لأغلبية الأحماض الأمينية في الكتاكيت قد انخفضت ولكن بدرجات متباينة لكل حمض أميني. وفي دراسة أخرى على الحيوانات المجترة لوحظ أن المعاملة الحرارية الرطبة لبروتين الغذاء لمدة 60 دقيقة أدت إلى زيادة ملحوظة في نسبة البروتين المقاوم للهجوم الميكروبي مع انخفاض طفيف في معامل الهضم، وعلى العكس من ذلك فإن زيادة فترات المعاملة الحرارية مدد تزيد عن 60 دقيقة أدت إلى انخفاض ملحوظ في معامل هضم البروتين وزيادة طفيفة في نسب البروتين المقاوم للهجوم الميكروبي بالكروش (Craig & Broderick, 1981). وقد أوضح الباحث أن تأثير المعاملة الحرارية لا يمكن شرحه ببساطة على أنه تأثير كل من الزمن مع درجة حرارة المعاملة ولكن هناك عدد من العوامل الأخرى مثل نوع وكمية السكريات المختزلة الموجودة لكل جزيء من الحمض الأميني وكذلك درجة حموضة الوسط المتفاعل وكمية الرطوبة المتوفرة في وسط التفاعل، وكل هذه العوامل هامة للوصول إلى أفضل معاملة حرارية. وقد وجد أن أفضل درجة pH لازمة لتفاعل مجموعة الأمين في الليسين هي 8-9 وان أفضل درجة رطوبة هي بين 20-25٪ في وسط التفاعل. وهناك دراسات أخرى تجمع بين المعاملة الحرارية ومعاملات كيميائية أخرى، وأفضل مثال لذلك هو معاملة البروتين بواسطة السكريات المختزلة قبل المعاملة الحرارية، وبيع فول الصويا المعامل بهذه الطريقة في شمال أمريكا وأوروبا ويمثل البروتين المحمي في هذا المنتج ما يعادل 65-80٪ من إجمالي

البروتين بالمقارنة مع النسب الطبيعية الموجودة فيه أساسا وهي 20-35% أو 50-60% في حالة معاملته بالحرارة الرطبة. وقد وجد أن سكر الزيلوز أكثر فعالية عن سكر الجلوكوز، الفركتوز أو اللاكتوز وأن إضافة 3 جزيئات من سكر الزيلوز لكل جزيء من حمض الليسين الموجود في مسحوق فول الصويا عملية فعالة جدا في جعل البروتين مقاوم لميكروبات الكرش (Cleale *et al.*, 1987). وقد وجد أن المعاملة الحرارية لمسحوق فول الصويا لمدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 150 م بعد معاملة المسحوق بواسطة هيدروكسيد الصوديوم وتعديل درجة pH إلى 8.5 وجعل نسبة المادة الجافة حوالي 83% ثم إضافة سكر الزيلوز بمعدل 3 جزيئات لكل جزيء من حمض الليسين في المسحوق قد أدت إلى جعل البروتين مقاوم لميكروبات الكرش وضاعف من كفاءة تسمين العجول والحملان بالمقارنة مع مسحوق فول الصويا التجاري. وفي دراسة أخرى (Cecava *et al.*, 1992) وجد أن معاملة مسحوق فول الصويا بواسطة كبريتات الزنك بنسبة 1-2% من المادة الجافة للمسحوق قبل المعاملة الحرارية الرطبة قد جعل بروتين فول الصويا المقاوم لميكروبات الكرش تصل إلى 70%، وهذا التأثير يرجع إلى أن المعادن الثقيلة معروف عنها أن تجعل البروتين يصبح غير ذائب. وقد وجد أيضا أن معاملة بروتين الغذاء بالكحوليات ثم يتبعها معاملة حرارية كان له تأثير ايجابي على جعل بروتين الغذاء أكثر مقاومة للهدم بواسطة ميكروبات الكرش دون ظهور أية تأثيرات سلبية على محتوى البروتين من الأحماض الأمينية (Lynch *et al.*, 1987).

2- المعاملات الكيميائية لأحماض الأمينية

يتوقف نجاح هذه الطريقة على مقدرة المركب الكيميائي المستخدم على التفاعل و الارتباط إما مع مجموعة الأمين أو مجموعة الهيدروكسيل للحمض الأميني، ونتيجة لذلك يحدث انخفاضا في درجة ذوبان البروتين تحت ظروف pH بيئة الكرش ولكن عند الوصول إلى الأنفحة وعند درجة pH تتراوح بين 2-2.5 يصبح هذا البروتين قابل للذوبان والامتصاص. ومن هذه المركبات الكيميائية المستخدمة

لحماية البروتين الألدheid، التانين، الكحوليات، بنتونايت الصوديوم، الزنك والسكريات المختزلة، ولكن أشهرها استخداما هو الفورمالدهيد. وأغلب استخدام الفورمالدهيد يكون مع مساحيق الحبوب الزيتية والسيلاج، حيث أن عدم معاملة السيلاج بالفورمالدهيد ينجم عنه تحلل جزء كبير من البروتين أثناء التخمر، وإضافة الفورمالدهيد أثناء التصنيع يفيد في تثبيط التحلل البروتيني للأعلاف أثناء عملية التخمر كما انه يفيد أيضا في جعل البروتين أكثر مقاومة للتخمر في كرش الحيوان (Waldo, 1977). وقد تستخدم مركبات أخرى بدلا من الفورمالدهيد مثل مركب الأسيئالدهيد والجلترالدهيد والجليوكسال ولكنها ليست على نفس درجة الفعالية في جعل البروتين محميا من الهجوم الميكروبي في كرش الحيوان. وفي إحدى الدراسات (Beever & Thomson 1981) وجد أن معاملة بروتين الكازين بالفورمالدهيد جعل الحملان تنمو بمعدلات أسرع وزاد فيها نمو الصوف، وقد لوحظ أن معاملة هضم الكازين المعامل بالمقارنة مع الكازين الغير معامل الداخل إلى الأنفحة مباشرة كان اقل بحوالي 6-8% وان هناك زيادة ملحوظة في كمية النتروجين المارة بالأمعاء الدقيقة وزيادة في معدلات امتصاصها بالأمعاء. وفي دراسة أخرى بواسطة (Kaufmann & Luppig 1982) وجد أن معاملة مسحوق فول الصويا بواسطة الفورمالدهيد بمعدل 2جم/كجم أدت إلى انخفاض ذوبان البروتين في محلول منظم الفوسفات من 24 إلى 5% ومعدل انطلاق الأمونيا في الكرش الصناعي من 55 إلى 15 جم نتروجين/100 جم نتروجين تم حضانتة في الكرش. وبصورة عامة فإن مركبات الألدheid تجعل البروتينات أقل ذوبانا وذلك لأنها تكون روابط متشابكة بين جزيئات البروتين المعامل ويتكون عنه مجاميع مثيلول على مجاميع الأمين الحرة للبروتين، وهذه المجاميع تتكثف بعدئذ مع مجاميع أخرى مثل مجاميع الأמיד الموجودة في أحماض الجليسين والأسبرتيك ومجاميع الجوانديل الموجودة في أحماض الأرجينين لتكون جسور مثيلين داخلية وخارجية بين جزيئات البروتين، وقد يحدث التفاعل أيضا بين مجاميع الأندول لحمض التربتوفان، أميدازول لحمض الهستيدين، والفينول لحمض التيروسين و السلفاهيدرل لحمض الميثيونين (Ferguson 1975). ويعتبر التانين من البولي فينولات النباتية والتي

لها أنشطة بيولوجية متعددة مع المركبات النباتية الأخرى، فالتانين يرتبط مع البروتين بروابط هيدروجينية مكونا مركبات معقدة ذوبانها ضعيف ومقاومة للتحلل الأنزيمي عند وسط الكرش (Broderick *et al.*, 1991). وحاليا توجد مساعي حديثة لاستغلال الهندسة الوراثية لإنتاج محاصيل بقوليه مثل البرسيم يحتوي على كميات ملائمة من التانين لجعل البروتين فيه محمي طبيعيا، حيث أن أغلب الأعلاف البقولية تمتلك طبيعيا على الجين المسئول عن تخليق التانين ولكنه منحصر أداءه في تكوين قشور البذرة والزهور فقط.

3- تخليق شبائه للأحماض الأمينية

الأحماض الأمينية الحرة غير مستقرة وتتحلل بسرعة في الكرش ولذلك اقترح العلماء في مطلع 1970 إنتاج شبائه كيميائية للأحماض الأمينية من خلال استبدال مجموعة الأمين بمجموعة كيميائية أخرى غير نتروجينية أو من خلال تحويل لمجموعة الأسيل للحمض الأميني، وهذه الشبائه مقاومة للتهدم والتخمر في الكرش الحيوانات المجتررة وتمتص من الأمعاء الدقيقة وتتحول إلى الصورة الطبيعية للحمض الأميني إما قبل أو بعد الامتصاص. وقد تم إنتاج العديد من الشبائه خاصة التي تشابه الميثيونين وقد لوحظ أن الشبائه ذات السلاسل الجانبية الطويلة مثل N-Stearyl-DL-Methionine و N-Oleoyl-DL-Methionine من أكثر المركبات مقاومة للتهدم في الكرش وتتميز بأنها تنتج مركب methyl mercaptan بكميات اقل من الميثيونين الحر داخل كرش الأغنام (Buttery *et al.*, 1977)، ويعتبر مركب Met-hydroxy analog من أشهر تلك الشبائه التي استخدمت على نطاق واسع ولها نفس التأثير البيولوجي في الحيوانات (Belasce 1972). وفي إحدى الدراسات لوحظ أن وضع مركب Stearyl-Methionine في الكرش مباشرة عمل على زيادة كمية حمض الميثيونين التي تصل إلى منطقة الأثني عشر للحملان بمعدل 20-50% (Langar *et al.*, 1978)، وان معدل مرور الميثيونين في الأثني عشر للعجول كان اكبر في حالة المعاملة بمركب Oleoyl-Methionine عن الميثيونين الحر (Heath *et al.*, 1977). وفي الدواجن والفئران يعتبر الميثيونين في صورته الطبيعية ومركب Methionine-hydroxy analog متكافئين في الفعالية البيولوجية، ولكن لوحظ أن التغذية على شبيه الميثيونين سابق الذكر غالبا ما يتسبب في تأثيرات إيجابية على معدل

التخمر في الكرش حيث تزداد أعداد البروتوزوا والبكتريا وتغير من نسب الأحماض الدهنية الطيارة في الكرش وكذلك في زيادة تركيز الليبوبروتين لسيرم دم المجترات (Loerch & Oke, 1989).

4- تغليف الأحماض الأمينية بالدهون

استخدمت المواد الدهنية بالمشاركة مع مركبات أخرى غير عضوية أو مع الكربوهيدرات في تغليف الأحماض الأمينية وإحاطتها بمركبات تقاوم الهجوم الميكروبي في الكرش، وهذه الطرق سهلة التصنيع وأمنه الاستخدام وتطبق حتى الآن فقط مع حمض الميثونين. وقد قام Sibbald *et al.* (1968) بتصنيع ميثونين مغلف يتكون من 20% ميثونين، 20% كولين و 60% ثلاثي الأستيارين على هيئة حبيبات صغيرة تتراوح حجم أقطارها 0.3-1.0 مم ومركزها الميثونين، وقد دلت الدراسات إن هذا الميثونين المغلف يتساوى مع الميثونين الحر في الفعالية البيولوجية على الفئران (Broderick *et al.*, 1970)، وكذلك إذا تم وضع هذا المركب في الكرش الصناعي لمدة 18 ساعة يظل فيه 70% من الميثونين محميا وان حوالي 12% فقط من الميثونين يظل مقاوما للهضم ولا يستفاد منه، وهذا يعني أن حوالي 60% من الميثونين المعامل بالتغليف يكون صالحا للاستفادة به من خلال الامتصاص بالأمعاء (Neudoerffer *et al.*, 1971). وقد اقترح (Grass & Unangst, 1972) إحلال الكولين وجزء من ثلاثي الأستيارين بواسطة 10% كربونات الكالسيوم و 15% حمض الأوليك لزيادة تفعيل امتصاص الميثونين في الأمعاء، فإذا تناول الغنم 40 جم من الميثونين المحمي يوميا أدى ذلك إلى زيادة تركيز الميثونين في البلازما إلى 23 ميكروجرام/مل بالمقارنة مع 5 ميكروجرام/مل في الحيوانات التي تتعاط الميثونين الحر. وقد تم تغليف الميثونين بطريقة أخرى تتلخص في إنتاج حبيبات بقطرين (2.1 و 3.5 مم) ويحتويان على 30% ميثونين، 2% جلوكوز، 4% مضادات للأكسدة، 6% كربونات الكالسيوم و 58% أحماض دهنية، وقد لوحظ أن 80% من الميثونين المغلف يقاوم ميكروبات الكرش في الأبقار الحلابة ويتسرب إلى الأثني عشر سليما ويمتص مؤديا إلى ارتفاع في تركيز حمض الميثونين في بلازما الدم، بينما باقي الميثونين (20%) يخرج مع روث الحيوان (Arambel *et al.*, 1987). وفي دراسات أخرى (Loerch & Oke, 1989) تم تصنيع ميثونين مغلف يحتوى على 85% ميثونين وكميات صغيرة من الأملاح المعدنية والنشا و الدهون والسليولوز، وهذا المركب يحتوى في مركزه على الميثونين والنشا

ومغلف برقائق متعددة مكونه من حمض الأستياريك والأثيل سليولوز ويصل قطرها إلى 1.8 مم، وهي تقاوم التحلل الميكروبي في الكرش حيث لوحظ أن 90% منها قاومت التحلل بعد ساعتين من التحضين في الكرش الطبيعي ثم انخفضت نسبة الميثونين المقاوم إلى 80% و 70% بعد مرور 6 و 15 ساعة من التحضين في الكرش على التوالي. وبصورة عامة فإن نجاح طريقة التغليف بالدهون تتوقف على إنتاج مغلفات كيميائية حساسة لدرجة pH الوسط المتعادل لبيئة الكرش ثم تصبح سهلة التحلل في الوسط الحمضي للأنفحة أو الأثى عشر للحيوان المجتر.

5- تغليف الأحماض الأمينية بالبوليمرات

يعتبر تغليف الأحماض الأمينية بالبوليمرات من انجح الطرق المستخدمة في حمايتها من ميكروبات الكرش، وهذه المغلفات تكون غير ذائبة في بيئة الكرش المتعادلة ولكنها تذوب وتتحرر منها الأحماض الأمينية في البيئات الحمضية للمعدة الحقيقية ومنطقة الأثى عشر، ولكن يعيب هذه الطريقة ارتفاع التكاليف عند الإنتاج على المستوى التجاري. وأشهر هذه البوليمرات المستخدمة تجاريا هي Imidamine polymer و Cellulose propionate-3-morpholino butyrate. وقد أوضحت الدراسات أن الميثونين المغلف بواسطة cellulose propionate morpholino butyrate أعطى نتائج ممتازة، فالتحضين لمدة 24 ساعة في بيئة كرش الأغنام أعطت حماية لحوالي 97% من الميثونين المستخدم بينما التعرض لسوائل المعدة الحقيقية (الأنفحة) أو الأثى عشر لمدة 30 دقيقة أذابت كليا مغلف البوليمر وجعلت الحمض الأميني حرا للامتصاص (Komarek & Jandzinski, 1978). وفي دراسات أخرى وجد أن حماية الميثونين و الليسين بواسطة مركبات Copolymer of styrene أو 2-methyl-5-vinyl pyridine أعطت نتائج ممتازة في حماية الأحماض الأمينية، وكلا المركبين كانا على حالهما المستقر في الوسط المتعادل ولمدة 24 ساعة بينما تحرر منها 95% من الأحماض الأمينية عند وضعهما في محلول منظم السترات (pH 2.9) ولمدة 60 دقيقة (Wright & Loerch, 1988). وفي دراسات أخرى تم تغليف الميثونين بواسطة حمض الأستياريك مع poly(2-vinylpyridine-co-styrene) على هيئة حبيبات صغيرة قطرها 2مم وقد وجد أن حوالي 90% من الميثونين في هذا المركب

تقاوم التحلل في سوائل الكرش عند تحضينها لمدة 24 ساعة وأن 90% من المثيونين المحمي يتم امتصاصه في الأمعاء الدقيقة (Polan *et al.*, 1991).