دانشکده کشاورزی
گروه علوم دامی

تغذیه تکمیلی

پروتئین Protein

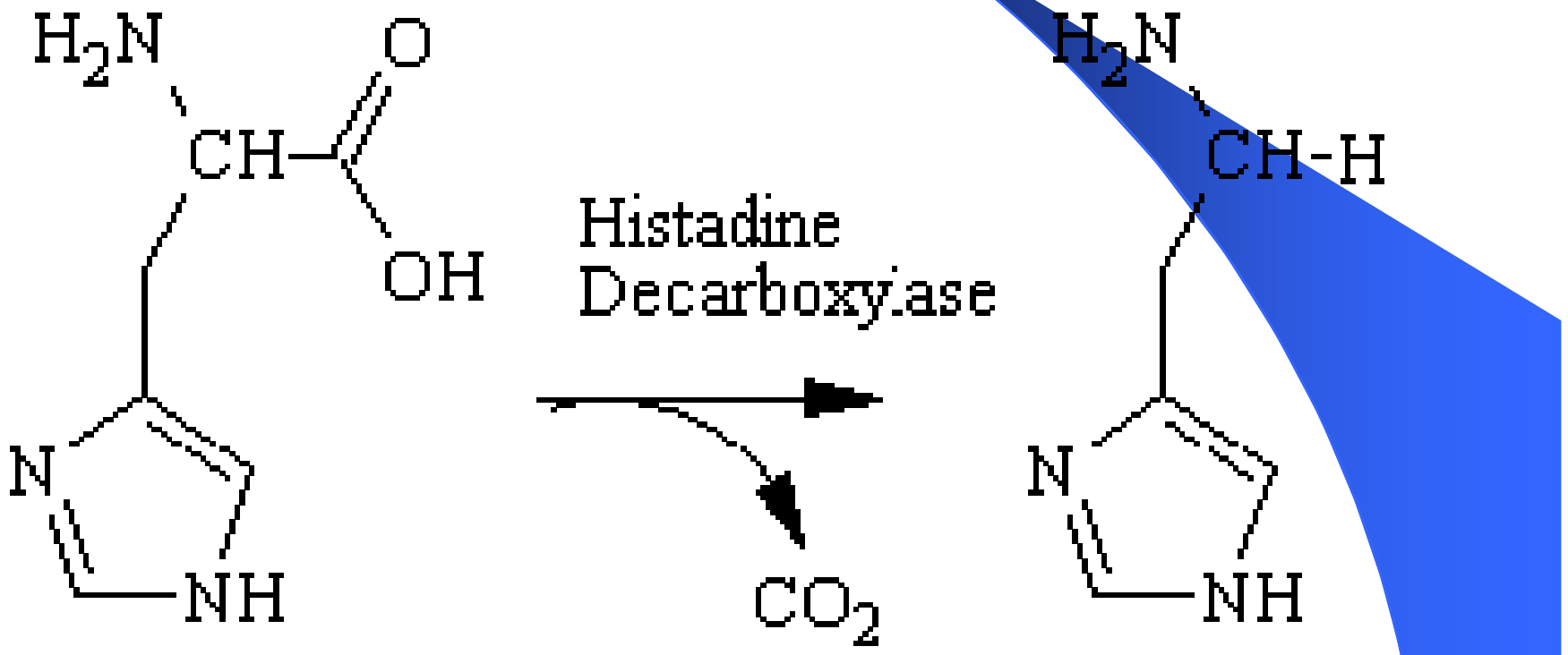
محمد خوروش

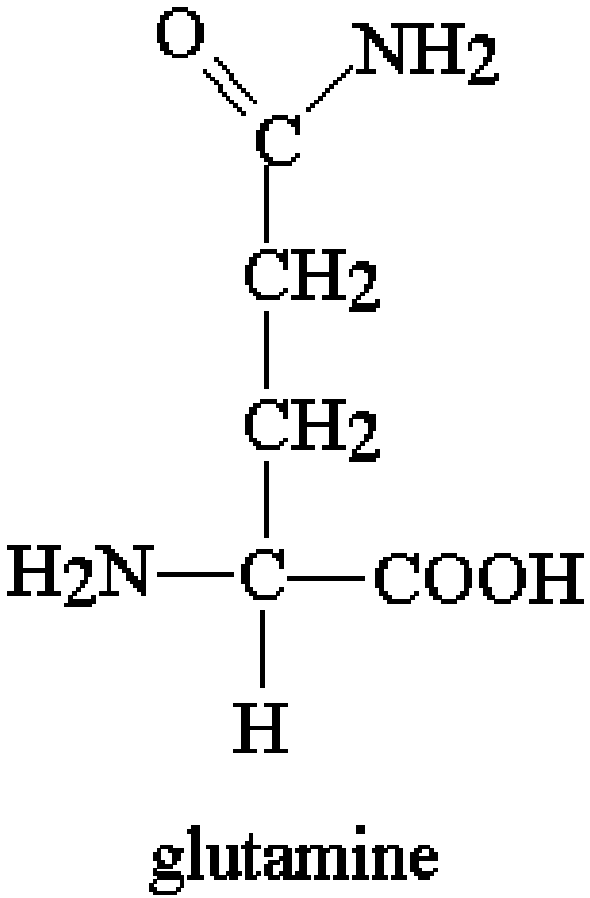
مقدمه

- نقش اصلی در فعل وانفعالات بیوشیمیایی بدن
- با توجه به اعمال مختلف در بدن، پروتئین های مختلفی هم از نظر ساختاری و عملکردی موجود می باشد
- تمامی آنها از 20 اسید آمینه تشکیل شده اند

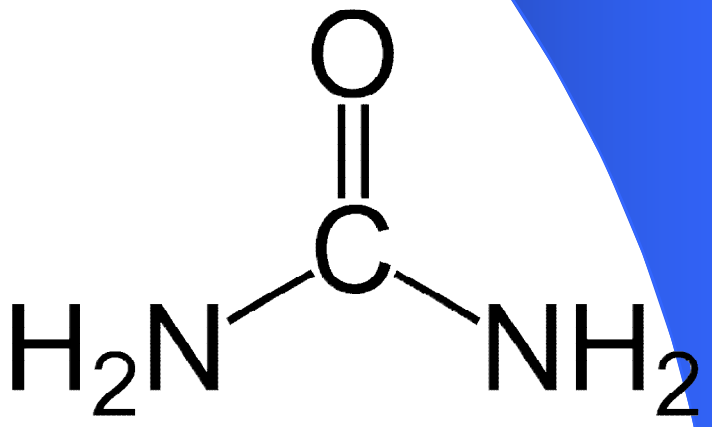
معیارهای ارزیابی پروتئین

- پروتئین خام
- کل نیتروژن غذا ضربدر 6/25
- NPN (نیتروژن غیرپروتئینی)
- TP (پروتئین حقیقی)
- معایب
- تمامی پروتئین ها 16% نیتروژن ندارند (شیر، جو،...)
- تمامی نیتروژن غذا از پروتئین نیست
- NPN (پپتید، اسیدآمینه، اسید نوکلئیک، آمین ها (هیستامین)، آمونیاک، آمیدها (اوره، گلوتامین و آسپاراژین)


H_2N
O
CH
OH
N
NH
Histadine
Decarboxylase
CO_2
H_2N
CH-H
N
NH
Histamine



glutamine



- TP (پروتئین حقیقی)
  - 95 درصد پروتئین دانه ها
  - 85 درصد پروتئین برگ و ساقه
  - 60 درصد پروتئین ریشه
  - 30-65 درصد پروتئین سیلاژ
- تعیین
  - رسوب با هیدرواکسید مس، اسید تانگستیک، اسید تری کلرواستیک
  - انعقاد با حرارت

پروتئین قابل هضم

- تعیین
  - تفاوت نیتروژن غذا از مدفوع
- معایب
  - نیتروژن متابولیکی مدفوع
  - جذب نیتروژن آمونیاکی و بازچرخ اوره در شکمبه
  - نیتروژن قابل هضم مترادف نیتروژن فراهم نیست

ارزش بیولوژیکی

- **Biological Value**
- نسبتی از پروتئین هضم شده غذا که توسط حیوان به مصرف بدن میرسد
- تصحیح برای هضم و جذب و دفع ادراری

$$BV = \frac{N_{intake} - (N_{fecal} - N_{metabolic}) - (N_{urine} - N_{endogenous})}{N_{intake} - (N_{fecal} - N_{metabolic})}$$

The protein requirements of lactating dairy cows

In NRC (1971, 1978), dietary requirements were expressed as CP and metabolic requirements were expressed as digestible protein.

In NRC (1989), dietary requirements were expressed as CP and degraded intake CP (DIP) and undegraded intake CP (UIP), and metabolic requirements were expressed as absorbed protein.

In NRC (2001), expression of dietary requirements as rumen-degradable CP (RDP) and rumen-undegradable CP (RUP) instead of DIP and UIP, expression of metabolic requirements as metabolizable protein (MP) and passage of essential amino acids (EAA) to the small intestine and their content in MP are predicted.

احتیاجات پروتئین در گاوهای شیرده

- NRC 1971, 1978
  - احتیاجات غذایی بر اساس CP و متابولیک بر اساس DP
- NRC, 1989
  - احتیاجات غذایی بر اساس CP, DIP, UIP و احتیاجات متابولیک بر اساس AP (پروتئین قابل جذب)
- NRC, 2001
  - احتیاجات غذایی بر اساس RDP, RUP و احتیاجات متابولیک بر اساس MP و عبور EAA به روده باریک و غلظت آنها در MP

سیستم ارزیابی پروتئین در نشخوارکنندگان

- **CP**
  - در تک معده ای ها **NPN** ارزشی ندارد
  - در نشخوارکنندگان جدا کردن این دو بخش مناسب نیست چون هر دو مورد استفاده قرار می گیرند
- **DIP, UIP**
- **MP**
- **BTP**
- **dUIP**

پروتئین قابل متابولیسم

- پروتئین قابل متابولیسم
  - پروتئین حقیقی (اسید آمینه) هضم و جذب شده در روده باریک
  - پروتئین تجزیه پذیر در شکمبه(RDP) یا پروتئین میکروبی ضربدر ضریب 1/18 برابر با میزان RDP می باشد (NRC 2001)
  - پروتئین غیر قابل تجزیه در شکمبه (RUP)
- نیاز پروتئینی
  1. تامین نیاز میکروبها (RDP)
  2. حیوان (BCP, RUP)

تجزیه پروتئین در شکمبه

- پروتئازها، پپتیدازها و دآمینازها
- پروتئین ← الیگوپپتید ← پپتید ← اسیدآمینه ← آمونیاک
- باکتریها
  - بیشترین پروتئاز میکروبی
  - در سطح سلول
- پروتوزوئرها
  - بلعیدن باکتریها و پروتئین
  - کلیه اعمال تجزیه پروتئین داخل سلول
  - کاهش بازده پروتئین در شکمبه

تولید آمونیاک در شکمبه

- باکتریها هم تولید و هم مصرف
- پروتوزوئرها تولید کننده و عدم مصرف
- قبلاً تصور می شد باکتریهای پروتئولیتیک در شکمبه مسئول تولید آمونیاک می باشند
- Russell et al. رد این فرضیه
  - سرعت تولید آمونیاک در این باکتریها کمتر از متوسط شکمبه می باشد
  - باکتریهای شکمبه
    - باکتریهای با تعداد زیاد و فعالیت دآمینازی کم (پروتئولیتیک ها)
    - شناخت گروه دوم باکتریها با تعداد کم ولی تولید آمونیاک بالا
      - این باکتریها از اسید آمینه به عنوان منبع انرژی استفاده میکنند

نیاز میکروبها و مصرف آمونیاک

- نیاز نیتروژنی بر اساس روش CNCPS (آمونیاک یا آمونیاک و پپتید) را بر اساس فعالیت:

1- باکتریهای ساختاری

(باکتریهای تجزیه کننده کربوهیدرات های الیافی)

- تماماً از آمونیاک

2- باکتریهای غیر ساختاری

(باکتریهای تجزیه کننده کربوهیدرات های غیر الیافی)

- 66% از آمونیاک و 34% به اسید آمینه و پپتید

- پروتوزوئرها استفاده از پروتئین حقیقی

کینتیک هضمی پروتئین در شکمبه

- عوامل تعیین کننده RDP, RUP
  - میزان NPN, TP
  - نرخ تجزیه پذیری پروتئین حقیقی در شکمبه
  - نرخ عبور
- مدل NRC بر اساس تجزیه پذیری در in situ
- RDP=A+B(Kd/Kd+Kp)
- RUP=C+B(Kp/Kp+Kd)
- مدل CNCPS بر اساس روش های آزمایشگاهی. یا محلولیت در حلال های مختلف استوار است

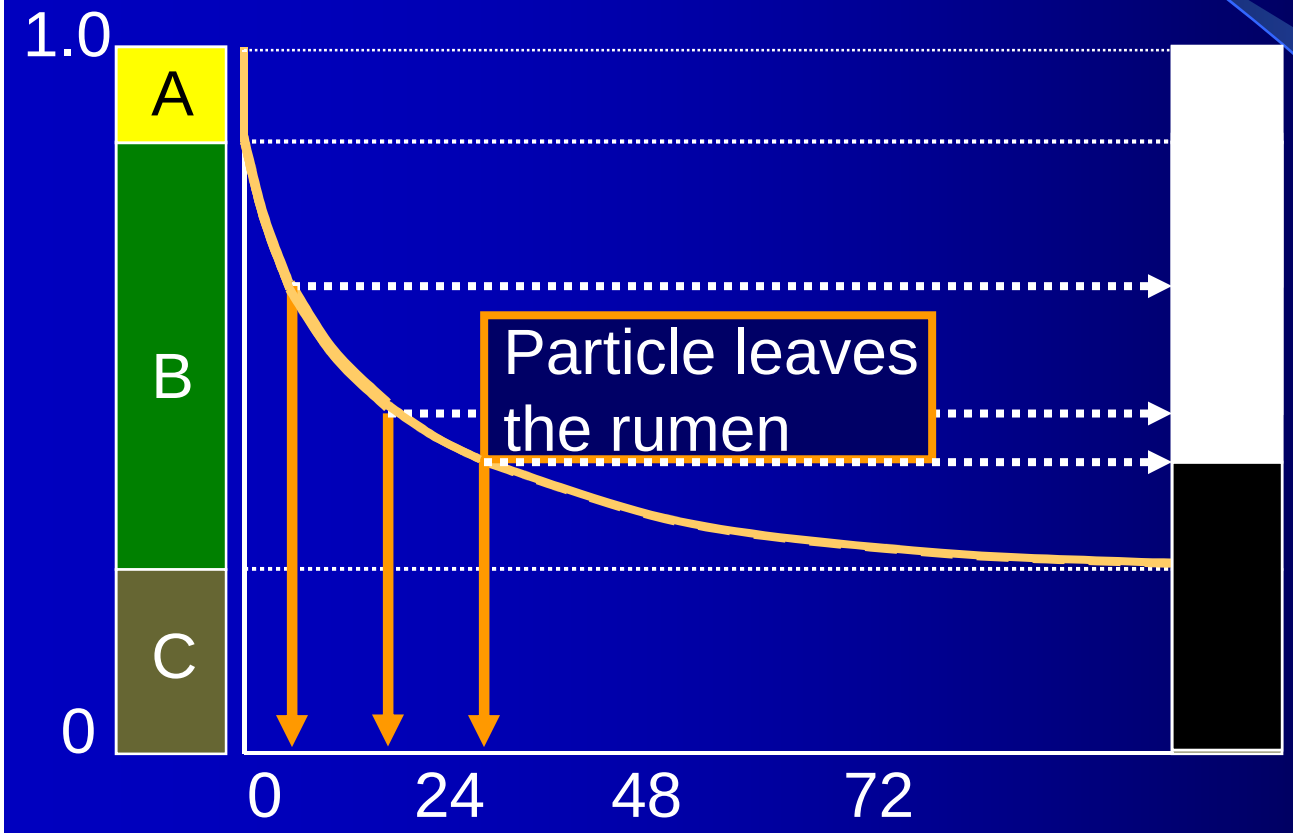
تقسیم بندی پروتئین به 5 قسمت

- بخش A
  - NPN
  - در زمان صفر محلول و بلا فاصله قابل تجزیه در شکمبه
  - K_d نامحدود
  - محلول در بافر بورات و فسفات و TCA
- بخش B (بخشی که میزان تجزیه پذیری آن بستگی به زمان دارد)
  - بخش B1
    - محلول در بافر بورات فسفات و نامحلول در TCA
    - K_d برابر 400-120% در ساعت

تقسیم بندی پروتئین به 5 قسمت

- بخش B2
  - B2=CP-A-B1-B3-C
  - K_d برابر 3-16%
- بخش B3
  - B3=NDICP-ADICP
  - K_d برابر 0.06-0.55%
- بخش C
  - پروتئین غیر قابل تجزیه همراه ADF
  - K_d برابر صفر

Degradable Protein vs Degraded Protein
Rumen Degraded Protein (RDP) vs. Rumen Undegraded Protein (RUP)

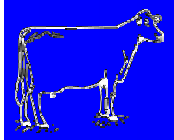


$$RDP = A + B\left\{\frac{K_d}{(K_d+K_p)}\right\}$$

$$RUP = B\left\{\frac{K_p}{(K_d+K_p)}\right\} + C$$

K_d = Digestion rate, %/h

K_p = Passage rate, %/h



Calculation, an Example

Feed	CP (% DM)	Fractions % CP A	B	C	Kd (%/h) of B	RUP % CP (1)	RDP % CP (1)
SBM (44%)	49.9	22	77	1	9.4	28 +	72 = 100

$$RUP = C + B\left\{\frac{K_p}{(K_d+K_p)}\right\} = 1 + 77\left\{\frac{0.0515}{(0.094 + 0.0515)}\right\} = 1 + 77 \times 0.35 = 28$$

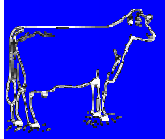
$$RDP = A + B\left\{\frac{K_d}{(K_d+K_p)}\right\} = 22 + 77\left\{\frac{0.094}{(0.094 + 0.0515)}\right\} = 22 + 77 \times 0.65 = 72$$

(1) DMI = 2% of BW; forage = 75% DMI; Kp wet forage = 4.28%/h; Kp conc. = 5.15%/h.

Note: Kp conc of 5.15 %/h = rumen retention time of: 1/0.0515 = 19.5 hours.

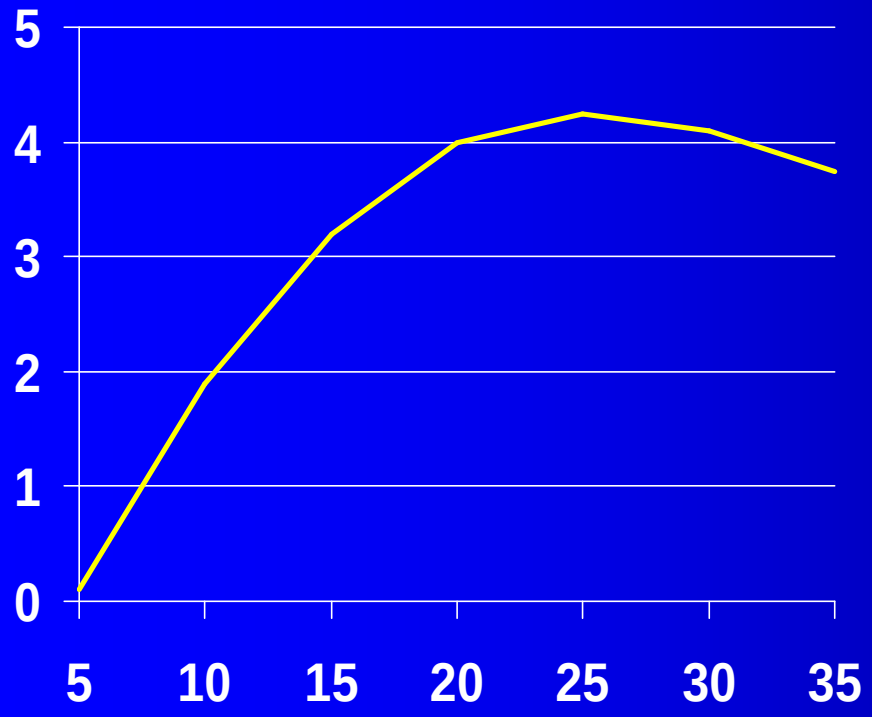
ساخت پروتئین میکروبی

- NRC 2001
- معادلات تجربی
- منبع انرژی (ATP) و نیتروژن
- اگر انرژی محدود کننده رشد میکروبی باشد
- $MCP=130g\times TDN_{discount}$
- اگر نیتروژن محدود کننده رشد میکروبی باشد
- $MCP=0.85\times RDP$
- CNCPS استفاده از معادلات علمی



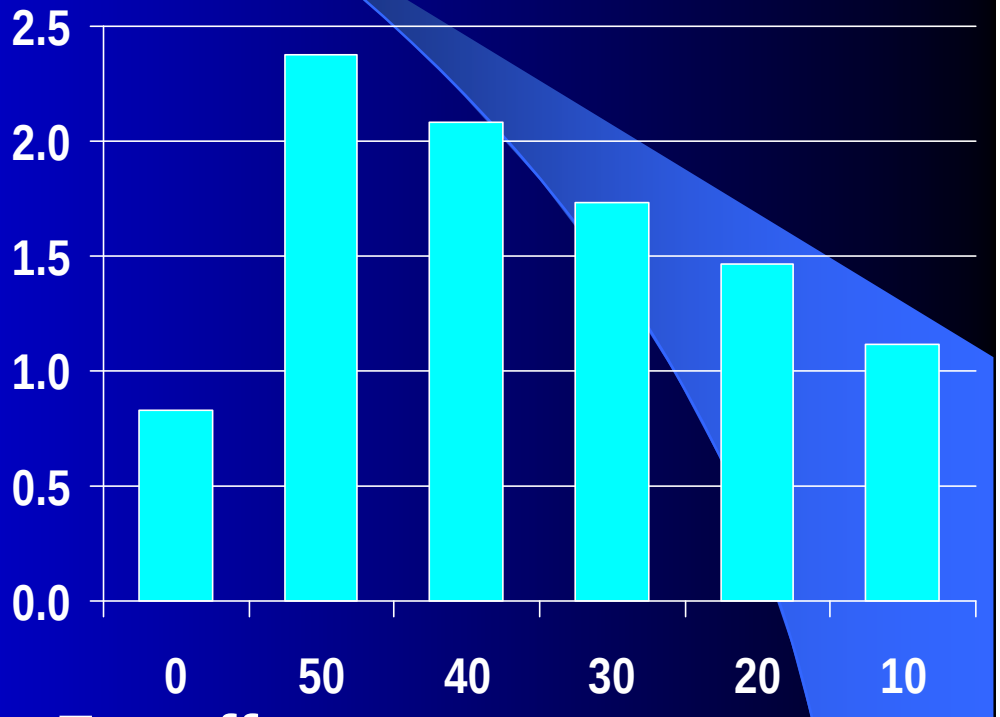
Rumen Microbial Protein Production

Microbial Crude Protein, lbs/d



OM Fermented in the rumen, (lbs/d)

Microbial Crude Protein, kg/d



Far-off Dry Cow

Milk Yield, kg/d

اهمیت تغذیه پروتئین

- فراهم کردن مقادیر کافی از RDP در شکمبه جهت تامین پروتئین میکروبی
- تامین مایحتاج و مکمل کردن اسید آمینه برای دام از طریق RUP و الگوی بهینه اسید آمینه ضروری در روده

- تخصیص حداقل CP در جیره از طریق بالا
  - کاهش هزینه جیره
  - کاهش اتلاف نیتروژن به محیط و آلودگی
  - غنی کردن بیشتر جیره از لحاظ مواد مغذی دیگر

تقسیم بندی پروتئین غذا بر اساس خصوصیات فیزیکوشیمیایی

- ساختمان و حلالیت
  - پروتئین های کروی
    - آلبومین (محلول در آب)
    - گلوبولین (محلول در نمک)
    - گلوتلین(محلول در الکل)
    - پرولامین (محلول در قلیا)
    - هیستیدین (محلول در آب و نمک)
  - پروتئین های الیافی
    - کلاژن، الاستین و کراتین (نامحلول در آب و نمک)
  - پروتئین نامحلول همراه با آلورون دانه، دیواره سلولی و دناتوره شده

نرخ تجزیه پذیری پروتئین در شکمبه

- شیمی پروتئین
  - ساختمان سه بعدی
    - داخل پروتئین، بین پروتئینی و بین کربوهیدرات و پروتئین
    - اتصالات دی سولفیدی زیاد (آلبومین، Ig ، پروتئین حرارت دیده و پر و مو) که بیشتر در بخش c می باشند

- فعالیت پروتئولیتیکی میکروبها
- pH شکمبه

احتیاجات پروتئین حیوان

- نیاز نگهداری
  - نیتروژن داخلی ادرار
  - نیتروژن متابولیکی مدفوع
  - نیتروژن پوست و ترشحات
- نیاز تولید
  - آبستنی
  - رشد
  - شیردهی

حفاظت پروتئین در برابر هضم شکمبه

- هدف تامین RUP کافی و با کیفیت جهت اجتناب از سطح بالای RDP و CP جیره
- حرارت
  - واکنش مایلارد
  - دناتوره کردن پروتئین
  - تخریب اسیدهای آمینه های لیزین، آرژنین و سیستئین
- عوامل شیمیایی
  - (اتصال، پوشاندن و دناتوره کردن)
- ترکیب حرارت و عوامل شیمیایی

اثرات تغذیه پروتئین در شکمبه

- تامین RDP برای میکروبها (غلظت آمونیاکی بیش از 5 میلی گرم در هر 100 میلی لیتر مایع شکمبه)
  - افزایش قابلیت هضم
- افزایش مصرف خوراک (از 12 تا 20 درصد)
- کاهش ME زمانی که پروتئین بیش از نیاز تغذیه شود (هزینه انرژی صرف ساخت اوره و افزایش HI)
- جلوگیری از کاهش وزن زیاد در اوایل شیردهی

اثرات پروتئین بر تولید مثل

- افزایش پروتئین مصرفی
  - افزایش اوره و مصرف انرژی جهت ساخت آن
  - تشدید توازن منفی انرژی در اوایل شیردهی
  - کاهش pH رحمی
  - کاهش پروستاگلاندین ها
- تاثیر منفی بخصوص با RDP بالا
- کنترل اوره خون و شیر
  - BUN>20mg/dl
  - MUN>19mg/dl

اسیدهای آمینه

- از آنجا که اسیدهای آمینه بر اساس کدهای ژنتیکی ساخته می شوند الگوی آن بوسیله اسید آمینه جذب شده تحت تاثیر قرار نمی گیرد.
- اگرچا الگوی اسیدهای آمینه پروتئین ساخته شده در بدن تحت تاثیر اسیدهای آمینه جذب شده قرار نمی گیرد ولی الگوی اسیدآمینه جذب شده میزان ساخته شدن آن پروتئین را تحت تاثیر قرار می دهد.
- در نشخوارکنندگان اسیدهای آمینه جذب شده (MP) برابر اسیدهای آمینه جذب شده روده ای که توسط پروتئین باکتریایی، RUP و پروتئین اندوژنوس تامین می شود.

اسیدهای آمینه ضروری

- اسیدهای آمینه ضروری در گاوهای شیری
- 10 ضروری
- عدم ساخت یا تولید ناکافی در بدن
- 8 عدم ساخت در بدن
- **Lys, Lue, Ile,Phe, Thr, Trp, Val, Met**
- 2 ساخت ناکافی در بدن
- **Arg, His**

پاسخ گاوهای شیرده به اسیدهای آمینه غیر ضروری

- تامین Pro در برخی شرایط منجر به افزایش تولید شیر
- گلونامین برای انسان در شرایط تنش اسید آمینه ای موثر می باشد
- غلظت آن در شرایط تنش کاهش می یابد
- بنظر می رسد در گاوهای تازه زا (ناهنجاریهای متابولیک) نیاز به گلوتامین افزایش می یابد

تحقیقات پیش رو در مورد اسیدهای آمینه

- اثر گلوتامین در روده
- آیا تیروزین می تواند در گاوهای شیری همانند تک معده ای ها تا حدی جایگزین فنیل آلانین شود
- آیا سیستئین می تواند در گاوهای شیری همانند تک معده ای ها تا حدی جایگزین متیونین شود
- بخش از نیاز به متیونین جهت متیل دادن برای ساخت کولین می باشد

اسید آمینه های محدود کننده

- در نشخوارکنندگان میکروبها منبع اصلی تامین اسیدهای آمینه در روده می باشند بنابراین تغییر الگوی اسیدآمینه روده تنها توسط RUP بالا صورت می گیرد
- در گاوهای پر تولید سهم RUP 35 تا 50 % کل اسیدآمینه های قابل جذب می باشد
- بجز پودر ماهی غلظت Lys و Met و یا هر دو از میکروبهای شکمبه و شیر کمتر است

Table 1. A comparison of the essential amino acid composition of body lean tissue, milk, and ruminal bacteria with that of some common feeds[1].

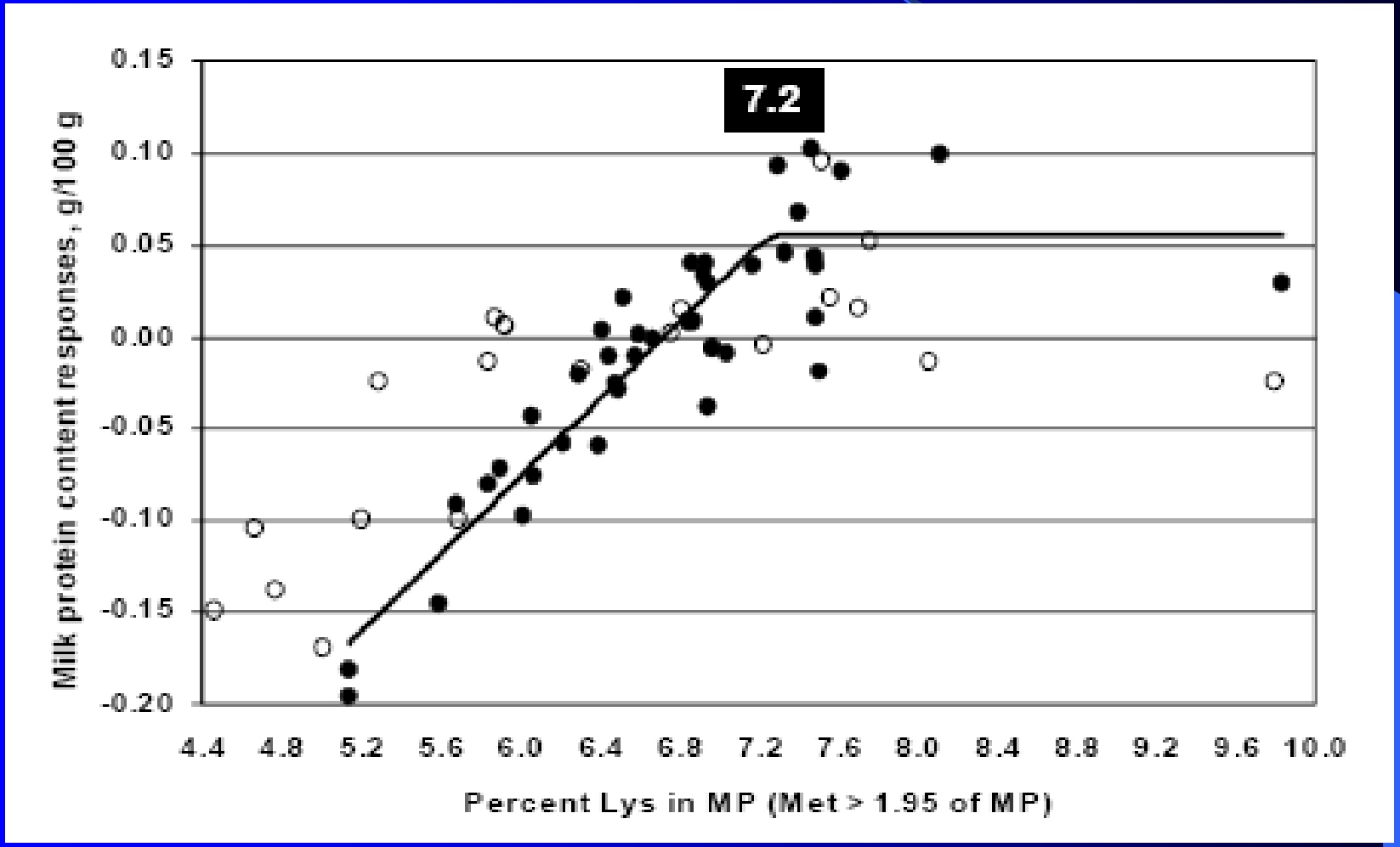
Item	Arg	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val
	(% of CP)									
Lean tissue	6.6	**2.5**	2.8	6.7	**6.4**	**2.0**	3.5	3.9	0.6	4.0
Milk	3.4	**2.7**	5.8	9.2	**7.6**	**2.7**	4.8	3.7	1.5	5.9
Bacteria	5.1	**2.0**	5.7	8.1	**7.9**	**2.6**	5.1	5.8	-	6.2
Alfalfa silage	3.9	**1.7**	3.9	6.4	**4.4**	**1.4**	4.2	3.8	0.9	5.0
Corn silage	2.0	**1.8**	3.3	8.6	**2.5**	**1.5**	3.8	3.2	0.4	4.5
Grass silage	3.1	**1.7**	3.6	6.1	**3.3**	**1.2**	4.4	3.3	1.1	4.9
Barley	5.1	**2.3**	3.5	7.0	**3.6**	**1.7**	5.1	3.4	1.2	4.9
Corn	4.6	**3.1**	3.3	11.2	**2.8**	**2.1**	4.6	3.6	0.7	4.0
Oats	6.8	**2.4**	3.8	7.3	**4.2**	**2.9**	5.2	3.5	1.2	5.2
Wheat	4.7	**2.4**	3.3	6.6	**2.8**	**1.6**	4.6	2.9	1.2	4.2
Brewers grains	5.8	**2.0**	3.9	7.9	**4.1**	**1.7**	4.6	3.6	1.0	4.8
Canola meal	7.0	**2.8**	3.8	6.8	**5.6**	**1.9**	4.1	4.4	1.5	4.7
Corn DDG w/sol	4.1	**2.5**	3.7	9.6	**2.2**	**1.8**	4.9	3.4	0.9	4.7
Corn gluten meal	3.2	**2.1**	4.1	16.8	**1.7**	**2.4**	6.4	3.4	0.5	4.6
Cottonseed meal	11.1	**2.8**	3.1	5.9	**4.1**	**1.6**	5.3	3.2	1.2	4.2
Soybean meal	7.3	**2.8**	4.6	7.8	**6.3**	**1.4**	5.3	4.0	1.3	4.6
Sunflower meal	8.2	**2.6**	4.1	6.4	**3.6**	**2.3**	4.6	3.7	1.2	5.0
Blood meal	4.4	**6.4**	1.3	12.8	**9.0**	**1.2**	6.9	4.3	1.6	8.7
Feather meal	6.9	**1.2**	4.9	8.5	**2.6**	**0.8**	4.9	4.7	0.7	7.5
Fish meal	5.8	**2.8**	4.1	7.2	**7.7**	**2.8**	4.0	4.2	1.1	4.8
Meat meal	7.1	**2.1**	3.0	6.3	**5.4**	**1.4**	3.6	3.4	0.7	4.4

[1] Amino acid values for lean tissue, milk, and ruminal bacteria are from O'Connor et al. (1993) and amino acid values for feeds are from NRC (2001).

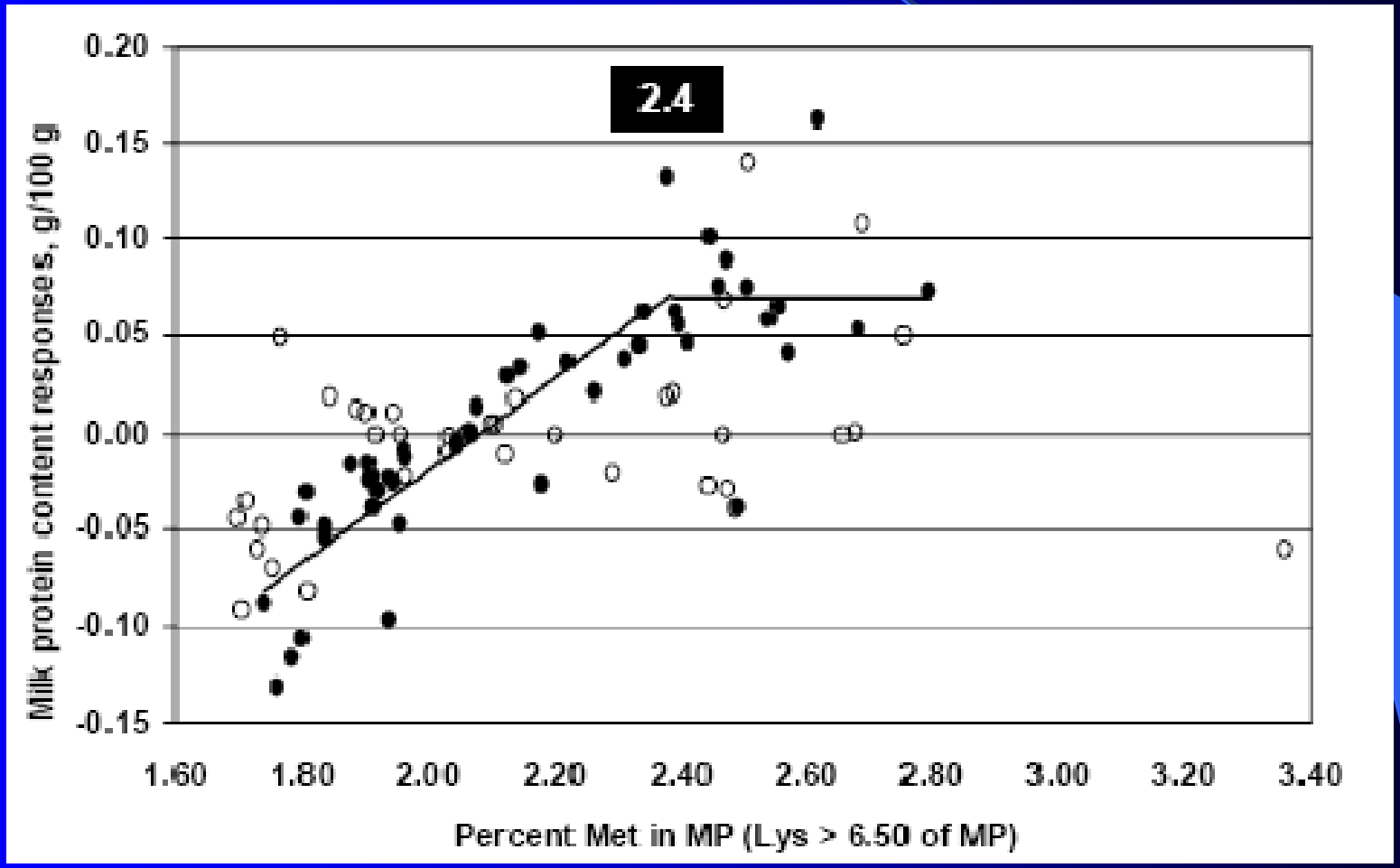
اسیدآمینه های محدود کننده در گاوهای شیرده

- **Met** اولین اسید آمینه محدود کننده در اکثر غذاها بجز غذاهای بر پایه ذرت و فرآوردهای آن می باشد
- **Lys** اولین اسید آمینه محدود کننده در جیره های بر پایه ذرت و فرآورده های آن می باشد
- در برخی شرایط برخی از اسیدهای آمینه دیگر بسته به نوع غذا محدود کننده می شوند مثل **His** هنگام مصرف سیلاژ گراس یا خوراک کم پروتئین
- گلوتامین یک اسید آمینه محدود کننده در شرایط توازن منفی انرژی می شود و غلظت آن در شیر بیشتر از باکتریها و اکثر غذاها می باشد

پاسخ گاوهای شیرده به غلظت های لیزین در پروتئین قابل متابولیسم



پاسخ گاوهای شیرده به غلظت های Met در پروتئین قابل متابولیسم



سیستم پروتئین در انگلستان

- ERDP= CP×(0.8a+(b×c/c+r))
- FME=ME-Me_{fat}-Me_{ferm}
- MCP=FME ×Y
- Y=9,10 and 11
- MTP=0.75 ×MCP
- DMP=0.85 ×MTP
- DUP=0.9 × (UIP-ADIN ×6.25)
- MP=DUP+DMP