

## تقسیم‌بندی پروتئین و متابولیسم نیتروژن در نشخوارکنندگان

نشخوارکنندگان دارای روابط سمبیوتیک با میکروارگانیسم‌های شکمبه هستند به طوری که حیوان مواد مغذی و شرایط محیطی مناسب را برای تخمیر خوراک فراهم می‌کند و میکروارگانیسم‌ها فیبر را تجزیه کرده و به عنوان منبع انرژی و پروتئین میکروبی سنتز شده را به عنوان منبعی از پروتئین برای حیوان فراهم می‌کنند. به هر حل این روابط سمبیوتیک دارای بازدهی ناکافی انرژی (اتلاف از طریق متان) و پروتئین (اتلاف از طریق آمونیاک) می‌باشد. این اتلاف نه تنها عملکرد تولیدی حیوان را کاهش داده بلکه به عنوان آلوده کننده‌های محیطی نیز به شمار می‌روند. بنابراین متخصصین تغذیه به متعادل کردن رقابت در میان جمعیت‌های میکروبی مختلف با هدف بهبود بازدهی کاربرد انرژی و پروتئین در شکمبه علاقه‌مند شده‌اند. این بهبود می‌تواند از طریق کاربرد افزودنی‌های خوراکی که محیط شکمبه را تغییر داده و یا جمعیت‌های خاص میکروبی را افزایش داده یا محدود نماید، حاصل شود (Calsamiglia et al., 2007). پروتئین فاکتوری کلیدی در نشخوارکنندگان است (Sahoo and Walli, 2008). بخشی از نیتروژن مصرف شده توسط حیوان به وسیله‌ی میکروارگانیسم‌ها در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود، که این آمونیاک توسط میکروارگانیسم‌های دیگر برای سنتز پروتئین میکروبی مصرف می‌گردد. ولی زمانی که غلظت آمونیاک بیشتر از ظرفیت تبدیل آن به جمعیت میکروبی باشد وارد خون، ادرار و شیر می‌شود (Reynold and Kristensen, 2008). با افزایش توان تولید شیر، کل انرژی و پروتئین مورد نیاز گاوها افزایش می‌یابد. افزایش نیاز پروتئینی گاوها صرفاً نمی‌تواند در قبال افزایش پروتئین جیره تامین گردد، زیرا مصرف پروتئین بیش از حد باعث ایجاد عوارض مربوط به خود می‌گردد. به هر حال طی مطالعات زیادی مشخص شده است که بین محتوای پروتئین خام جیره و عملکرد تولید مثلی هم‌بستگی منفی وجود دارد (Szkoly, 2005; Bach et al., 2005). با افزایش محتوای پروتئین جیره (مخصوصاً اگر جیره حاوی مقادیر زیادی از پروتئین قابل تجزیه در شکمبه باشد) میزان آمونیاک شکمبه زیاد شده که افزایش محتوای اوره خون و در نتیجه سبب کاهش باروری در دام نر و ماده می‌گردد. به نظر می‌رسد راه حل چنین مشکلی کاهش تجزیه‌ی پروتئین در شکمبه می‌باشد. با افزایش تولید شیر تجزیه‌پذیری جیره به طور تدریجی به ۵۵ تا ۶۰ درصد کاهش می‌باشد (Szkoly, 2005). همچنین مصرف نیتروژن ناکافی به وسیله‌ی حیوان نیز باعث دفع نیتروژن مازاد به محیط شده (Benchaar et al., 2008) که هم هزینه‌بر است و هم آلودگی محیط زیست را به دنبال دارد. به علاوه بازدهی ابقاء نیتروژن در نشخوارکنندگان در مقایسه با بازدهی بیشتر در سیستم تولید تک‌معدله‌ای‌ها کم و متغیر است (۱۳ تا ۳۲ درصد). این بازده کم باعث افزایش هزینه‌ی تولید و اتلاف بیشتر نیتروژن به محیط زیست می‌گردد. بنابراین کاربرد نیتروژن تاثیر مثبتی بر بازدهی تولیدی حیوان و محیط زیست دارد (Benchaar et al., 2008). بنابراین میکروبیولوژیست‌ها و متخصصین تغذیه به دنبال روش‌های مطلوب برای تغییر متابولیسم شکمبه برای بهبود بازدهی خوراک و تولیدات حیوانی هستند. از جمله این روش‌ها می‌توان به استفاده از مخمرها، اسیدهای آلی، پروبیوتیک‌ها آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات فعال گیاهی اشاره کرد (Calsamiglia et al., 2007; Rochford et al., 2008). ترکیبات گیاهی فعال به ۴ گروه پلی‌فنول‌ها و تانن‌ها، ساپونین‌ها، ارگانوسولفورها و روغن‌های ضروری طبقه‌بندی می‌شوند

(Calsamiglia et al., 2007). به طور کلی در مورد تاثیر استفاده از گیاهان در نشخوارکنندگان کمی وجود دارد (Rochford et al., 2008). این ترکیبات فعال برای بهبود فعالیت میکروبی شکمبه مفید هستند (Benchaar et al., 2008; Hart et al., 2008). پیش از آنکه به بررسی متابولیسم نیتروژن (پروتئین) در نشخوارکنندگان پردازیم نخست به معرفی بخش‌های مختلف یک پروتئین و تقسیم‌بندی آن می‌پردازیم. در سیستم کربوهیدرات و پروتئین خالص کرنل پروتئین خوراک به سه بخش تقسیم می‌شود. نیتروژن غیر پروتئینی (NPN)، پروتئین حقیقی و پروتئین غیر قابل دسترس (Russel et al., 1990) است که به ترتیب شامل بخش A, B و C می‌باشد (Russel et al., 1990; Nakamura et al., 1994). بخش A یا ازت غیر پروتئینی (NPN) به سرعت در شکمبه به آمونیاک تبدیل می‌شود. پروتئین حقیقی بر اساس نرخ تجزیه در شکمبه به سه زیر گروه B1, B2 و B3 تقسیم می‌شود. بخش C همان بخش پروتئینی که در ارتباط با لیگنین، ADF، کمپلکس پروتئین-تانن و یا محصولات واکنش میلارد است (Nakamura et al., 1994). چندین بخش مهم و تعریف آنها در تغذیه‌ی نشخوارکنندگان وجود دارد که در زیر به آنها پرداخته می‌شود.

#### ۱- پروتئین خام (CP (Crude protein

پروتئین خام معیار نیتروژن کل نسبت به پروتئین حقیقی است. روش اندازه‌گیری آن بر اساس این فرض است که تمامی پروتئین‌ها حاوی ۱۶ درصد پروتئین می‌باشند. رایج‌ترین روش برای اندازه‌گیری آن استفاده از دستگاه کجلدال می‌باشد. نیتروژن به دست آمده از این روش در عدد ۶/۲۵ برای به دست آوردن متوای پروتئین خام ضرب می‌شود.

#### ۲- پروتئین محلول (SCP (Soluble protein

پروتئین محلول بخشی از پروتئین خام است که در محلول بافر، آب یا مایعات شکمبه محلول می‌باشد. در روش جدید، SCP به عنوان پروتئین محلول در بافر فسفات بورات اندازه‌گیری می‌شود. مقادیر قابل توجه از CP در ترکیبات غذایی تازه و جوان به صورت محلول می‌باشد. پروتئین محلول به سرعت توسط میکروب‌های شکمبه تجزیه می‌شود. پروتئین محلول حاوی تمامی نیتروژن‌های غیرپروتئینی و برخی پروتئین‌های حقیقی است.

#### ۳- نیتروژن غیر پروتئینی (NPN (Non-protein nitrogen

شامل تمام ترکیبات غیرنیتروژنی است که ساختار پیچیده‌ی یک پروتئین حقیقی را ندارد. نیتروژن غیرپروتئینی شامل آمونیاک، پپتیدهای کوچک، اسیدهای آمینه‌ی آزاد، آمین‌ها و آمیدها می‌باشد. اکثر پروتئین محلول در سیلاژ و محصولات فرعی کشاورزی (کاه و کلش) به شکل نیتروژن غیرپروتئینی می‌باشد. شبیه پروتئین محلول، نیتروژن غیرپروتئینی نیز به سرعت به آمونیاک در شکمبه تبدیل می‌شود.

#### ۴- پروتئین نامحلول در شوینده‌ی خنثی (NDICP (Neutral detergent insoluble protein یا NDIN



مقدار پروتئین خامی است که همراه دیواره‌ی سلولی می‌باشد. تعریف دیگر آن مقدار پروتئین است که در شوبنده‌ی خشتی، نامحلول است. این بخش پروتئین به آهستگی در شکمبه به خاطر همراهی آن با دیواره‌ی سلولی تجزیه می‌شود. بنابراین درصد بالایی از آن از تخمیر میکروب‌های شکمبه فرار کرده و در روده‌ی باریک هضم می‌شود. علوفه‌های بالغ، محصولات فرعی آبجوسازی و خوراک‌های حرارت دیده شده حاوی مقادیر قابل توجهی از این نوع پروتئین هستند.

#### ۵- پروتئین نامحلول در شوبنده‌ی اسیدی (ADICP یا ADIN)

مقدار پروتئین همراستا با فیبر شوبنده‌ی اسیدی یا مقدار پروتئینی که در شوبنده‌ی اسیدی نامحلول است، می‌باشد. این بخش از پروتئین توسط میکروب‌های شکمبه تجزیه نمی‌شود و توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک در روده‌ی باریک هم تجزیه نمی‌شوند. بنابراین این بخش از پروتئین به عنوان پروتئین غیرقابل دسترس نیز خوانده می‌شود. سطوح بالای این نوع پروتئین در یک خوراک نشان دهنده‌ی کیفیت پایین آن خواهد بود. خوراک‌هایی که در معرض حرارت بالا قرار دارند حاوی مقادیر بالایی از این پروتئین هستند (پروتئین آسیب دیده توسط حرارت).

#### ۶- پروتئین غیرقابل تجزیه در شکمبه (RUP (Ruminal undegraded protein)

به بخشی از پروتئین جیره اشاره دارد که توسط میکروب‌های شکمبه تجزیه نمی‌شود. چندین روش آزمایشگاهی برای تخمین این بخش از پروتئین به کار گرفته شده است. رایج‌ترین روش تکنیک کیسه‌ی نایلونی (in situ) می‌باشد.

#### ۷- پروتئین عبوری شکمبه (Ruminal bypass protein)

اصطلاح پروتئین عبوری گاهی اوقات به اشتباه برای RUP به کار گرفته می‌شود. این اصطلاح به بخشی از پروتئین جیره که از حمله‌ی میکروب‌ها فرار کرده و شکمبه را بدون این که با محتویات شکمبه مخلوط شود ترک می‌کند اشاره دارد. خوراک‌های مایع که از ناودان مری عبور می‌کنند در این دسته‌بندی قرار می‌گیرند.

#### ۷- پروتئین میکروبی شکمبه (Ruminal microbial protein)

بخش پروتئین سنتز شده توسط میکروب‌ها در شکمبه می‌باشد. میکروب‌های شکمبه آمونیاک، اسیدهای آمینه و پپتیدها را مصرف می‌کنند و پروتئین میکروبی تولید می‌کنند. حدود ۶۰ تا ۸۰ درصد از نیازمندی پروتئین گاوهای شیری توسط میکروب‌های شکمبه تولید می‌شود. پروتئین میکروبی قابلیت هضم بسیار بالایی توسط حیوانات دارد (قابلیت هضم ۸۰ درصد).

#### ۸- نیتروژن متابولیکی مدفوعی (MFN (Metabolic fecal nitrogen)

مقدار پروتئینی است که به طور مستقیم از پروتئین خوراک هضم نشده یا پروتئین میکروبی نتیجه نشود. منابع MFN شامل آنزیم‌ها و سلول‌های اپیتلیومی روده می‌باشد. نیتروژن متابولیکی مدفوعی می‌تواند از نیتروژن مدفوعی حیوانات تغذیه شده با یک جیره‌ی بدون نیتروژن به دست آید.

#### ۹- پروتئین قابل متابولیزه (Metabolizable protein)

به عنوان مقدار خالص پروتئین حقیقی یا اسیدهای آمینه (پروتئین حقیقی خوراک و میکروبی) تعریف می‌شود که در روده‌ی باریک جذب می‌شود. مجموع خوراک هضم شده و پروتئین میکروبی منهای اسیدنوکلئویک می‌باشد.

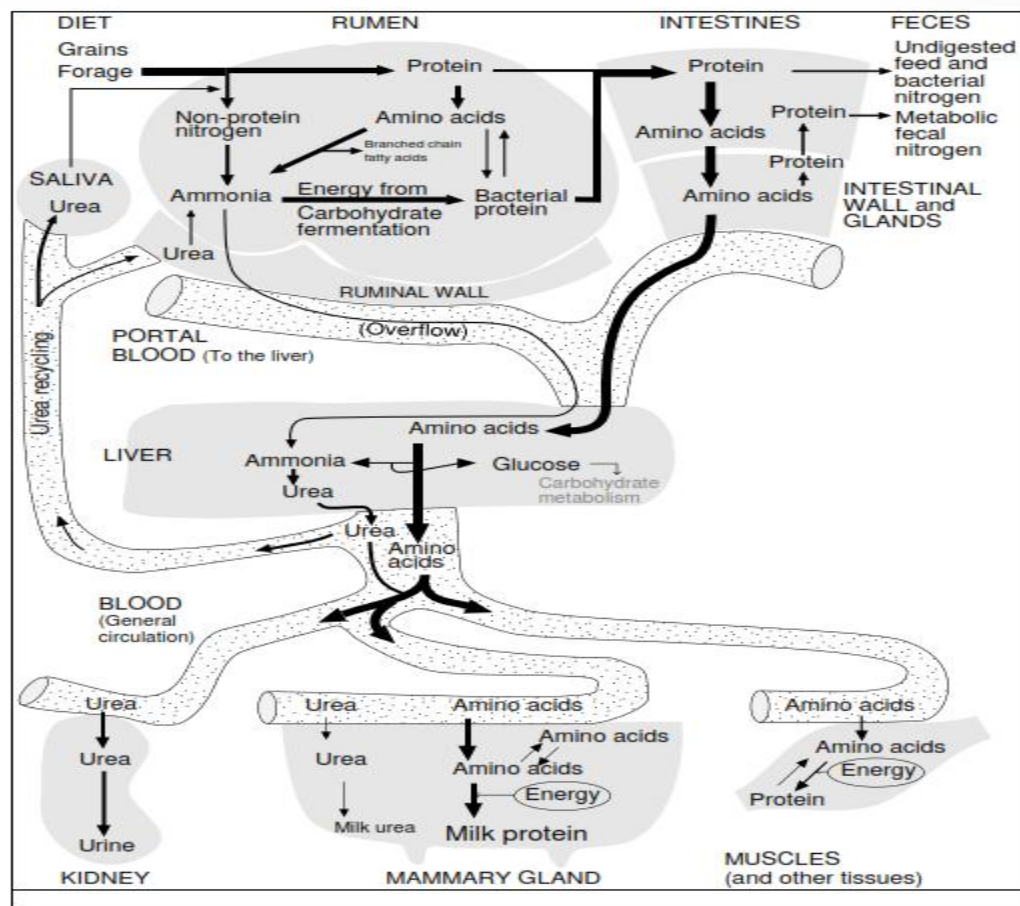
#### متابولیسم پروتئین

متابولیسم پروتئین در شکمبه نتیجه‌ی فعالیت متابولیکی میکروارگانیزم‌های شکمبه‌ای است. ساختار پروتئین‌ها به عنوان فاکتور کلیدی تعیین کننده‌ی حساسیت به پروتئاز میکروبی و همچنین تجزیه‌پذیری آنها است. پروتئین جیره مصرفی به دو دسته قابل تجزیه در شکمبه (RDP) (RDP ساخته شده از نیتروژن غیرپروتئینی و پروتئین حقیقی) و پروتئین قابل تجزیه در شکمبه UDP تقسیم می‌شود (Bach et al., 2005; McDonald, 1995). پروتئین حقیقی به پپتیدها و اسیدهای آمینه تقسیم می‌شوند و سرانجام در اثر دی‌آمیناسیون به نیتروژن آمونیاکی (NH<sub>3</sub>-N) و یا به پروتئین میکروبی تبدیل می‌شود. نیتروژن غیرپروتئینی ساخته شده از نیتروژن موجود در DNA و RNA، آمونیاک، اسیدهای آمینه و پپتیدهای کوچک و همچنین نیتروژن حاصل از پپتیدها، اسیدهای آمینه و آمونیاک برای رشید میکروبی استفاده می‌شوند (Bach et al., 2005).

#### تجزیه شکمبه‌ای پروتئین

مرحله‌ی اول تجزیه‌ی پروتئین در شکمبه با اتصال باکتری‌ها به ذرات غذا شروع می‌شود و به دنبال آن فعال شدن پروتئاز میکروبی علیه باندهای سلولی ادامه می‌یابد. تقریباً ۷۰ تا ۸۰ درصد میکروارگانیزم‌های شکمبه به بخش‌های غیرقابل هضم غذا در شکمبه متصل می‌شوند و ۳۰ تا ۵۰ درصد آنها فعالیت پروتئولیتیک دارند. تعداد بسیاری از گونه‌های میکروبی متفاوت که به بخش‌های غذا می‌چسبند، به صورت همزیست عمل نموده تا بخش‌های مختلف غذا از جمله پروتئین را تجزیه کنند. تولیدات حاصل از این فرآیند شامل پپتیدها و اسیدهای آمینه است. سرعت و مقدار تجزیه پروتئین به فعالیت پروتئولیتیکی میکروفلورای شکمبه‌ای و نوع پروتئین بستگی دارد. پپتیدها و اسیدهای آمینه حاصل از فعالیت‌های پروتئولیتیک خارج سلولی به داخل سلول‌های میکروبی انتقال داده می‌شوند. پپتیدهای حاصل توسط پپتیداز به اسیدهای آمینه تجزیه شده و سپس به پروتئین میکروبی تبدیل می‌شوند یا این که در اثر دی‌آمیناسیون به اسیدهای چرب فرار، دی‌اکسید کربن و آمونیاک تبدیل می‌شوند. سرنوشت پپتیدها و اسیدهای آمینه جذب شده داخل سلول میکروبی، بستگی به قابلیت دسترسی انرژی (کربوهیدرات‌ها) دارد. اگر انرژی در دسترس باشد، اسیدهای آمینه به پروتئین میکروبی تبدیل خواهد شد یا اینکه به طور مستقیم برای سنتز پروتئین میکروبی استفاده می‌شوند. اما اگر مقدار انرژی محدودیت داشته باشد، اسیدهای آمینه در اثر فرآیند دی‌آمیناسیون، تجزیه شده و اسکلت کربنی آنها در اثر تخمیر به اسیدهای چرب فرار (VFA)

تبدیل می‌گردد (شکل ۱) (Bach et al., 2005). بنابراین برون‌ده شکمبه شامل ۱- نیتروژن آمونیاکی، ۲- پروتئین غیرقابل تجزیه از منشاء جیره‌ی غذایی یا از منشا آندوژنوس و ۳- پروتئین میکروبی است. زمانی که میزان RDP جیره بیش از نیاز میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد، مازاد آن به صورت نیتروژن آمونیاکی جذب خون شده و در کبد به اوره تبدیل و از طریق ادرار دفع می‌گردد.



شکل ۱- متابولیسم نیتروژن

سنتز پرتئین میکروبی در شکمبه سبب عرضه مقدار زیادی پروتئین در روده‌ی کوچک نشخوارکنندگان می‌شود، به طوری که حدود ۵۰ تا ۸۰ درصد از کل پروتئین قابل جذب از این نوع است. مقدار کل پروتئین میکروبی که به روده کوچک جریان دارد، به قابلیت دسترسی مواد مغذی و راندمان استفاده از این مواد مغذی توسط باکتری‌های شکمبه‌ای دارد. در نشخوارکنندگان دارای تولید بالا تجزیه‌ی پروتئین باعث هدر روی پروتئین‌های جیره‌ای می‌شود زیرا غلظت آمونیاک را در شکمبه افزایش می‌دهد. همچنین در اثر تجزیه مازاد پروتئین میکروبی در شکمبه نیز غلظت آمونیاک افزایش می‌یابد (Karnati, 2006). بنابراین کنترل آمونیاک تولید به نظر می‌رسد راهی برای افزایش استفاده از ازت تولید باشد.

حمیدرضا همتی متین

شرکت پیشگامان سپند گستر

