

ارتباط ساختار مولکولی پروتئین با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه گاوهای

شیری

حجت قلی زاده^{۱*}، عباسعلی ناصریان^۱، رضا ولی زاده^۱، عبدالمنصور طهماسبی^۱ و پی کوآنگ یو^۲

۱- گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، ۲- گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ساسکاچوان

*Gholizadeh.hojat@gmail.com

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی ارتباط ساختار مولکول پروتئین جو (نسبت آمید ۱ به ۲ و آلفا هلیکس به صفحات بتا) با پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه گاوهای شیری انجام شد. ساختار مولکولی پروتئین جو به لحاظ آمید ۱، آمید ۲، آلفا هلیکس، صفحات بتا و نسبت آنها به یکدیگر با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوری (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) تعیین شد. پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه با استفاده از مدل DVE/OEB تخمین زده شد. ارتباط ساختار مولکولی پروتئین با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه با استفاده از همبستگی پیرسون تعیین شد. میانگین نسبت سطح پیک جذب آمید ۱ به ۲ و آلفا هلیکس به صفحات بتا ارقام جو مطالعه شده در این آزمایش به ترتیب برابر 0.06 ± 0.01 و 0.12 ± 0.01 بود. ارقام جو به طور متوسط $81/97 \pm 4/45$ گرم در کیلوگرم ماده خشک پروتئین قابل متابولیسم و $24/05 \pm 14/09$ گرم در کیلوگرم ماده خشک توازن پروتئین در شکمبه داشتند. نتایج به دست آمده نشان داد که نسبت آمید ۱ به ۲ همبستگی مثبت با میزان پروتئین قابل متابولیسم ($R=0/9$; $P<0/05$) داشت. نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا همبستگی معنی داری با پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه نداشت ($P>0/05$). نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که ساختار مولکولی پروتئین به لحاظ آمید ۱ و آمید ۲ تأثیر مهمی بر میزان پروتئین قابل متابولیسم تأمین شده به وسیله جو در تغذیه گاوهای شیرده دارد.

کلمات کلیدی: پروتئین قابل متابولیسم - ساختار مولکولی پروتئین - جو

مقدمه

پروتئین‌ها مواد آلی بزرگ و یکی از انواع درشت مولکول‌های زیستی هستند که از زیر واحدهایی به نام اسید آمینه ساخته شده‌اند و دارای ساختارهای مولکولی متفاوتی هستند. ساختار ثانویه مولکول پروتئین یکی از ساختارهای پروتئین است و به صورت مارپیچ های آلفا (آلفا هلیکس) و صفحات بتا می‌باشد. منابع مختلف خوراک دارای پروفایل و نسبت‌های متفاوت آمید ۱، آمید ۲، آلفا هلیکس و صفحات بتا در ساختار ثانویه پروتئین هستند (۱) و تغییر در ساختار مولکولی پروتئین خوراک می‌تواند کیفیت پروتئین، مصرف مواد مغذی، قابلیت دسترسی و خصوصیات هضم پروتئین خوراک را تحت تأثیر قرار دهد (۲، ۴). مطالعات انجام شده به وسیله دایرون و همکاران (۵) بر روی دانه کتان فرآوری شده و یو و نئوز اورتین (۲) بر روی فرآورده‌های فرعی حاصل از تولید اتانول نشان دادند که همبستگی معنی‌داری بین ساختار مولکولی پروتئین با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه وجود داشت. پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه دو فاکتور مهم در تنظیم جیره غذایی گاوهای شیرده می‌باشد و تأثیر مهمی بر عملکرد حیوان دارند (۶، ۷)، لذا مطالعه عوامل مؤثر بر میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه امری مهم و ضروری می‌باشد. با توجه به اینکه جو بخش عمده‌ای از جیره غذایی نشخوارکنندگان را تشکیل می‌دهد و نقش مهمی در تأمین انرژی و تا

اندازه‌ای پروتئین برای نشخوارکنندگان دارد، آزمایش زیر به منظور بررسی ارتباط ساختار مولکولی پروتئین (نسبت آمید ۱ به ۲ و آلفا هلیکس به صفحات بتا) با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین تامین شده به وسیله آن در تغذیه گاوهای شیرده انجام شد.

مواد و روش

در این آزمایش ۶ رقم جو که از مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه شده بود به منظور بررسی ارتباط ساختار ثانویه مولکول پروتئین با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه گاوهای شیری استفاده شد. طیف جذب مولکولی نمونه های جو با استفاده از دستگاه طیف سنج مادون قرمز تبدیل فوریه (JASCO FTIR-ATR-(Fourier Transform Infrared Spectroscopy) 4200 JASCO Corporation, Tokyo, Japan تعیین شد. سطح پیک جذب گروه های عاملی آمید ۱، آمید ۲، آلفا هلیکس، صفحات بتا و نسبت آنها به یکدیگر با استفاده از نرم افزار (OMNIC 7.3 software Spectra Tech, Madison, WI, US) تعیین شد. میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه با استفاده از مدل DVE/OEB ارائه شده به وسیله تامین‌گا و همکاران (۷) تخمین زده شد. در این مدل DVE (پروتئین قابل متابولیسم) و OEB (توازن پروتئین در شکمبه) به ترتیب به صورت زیر محاسبه شد:

$$DVE = DVME + DVBE - DVMFE$$

DVME = میزان پروتئین میکروبی قابل هضم و جذب از روده کوچک

DVBE = میزان پروتئین عبوری خوراک قابل هضم و جذب در روده کوچک

DVMFE = میزان پروتئین آندوژنوس

توازن پروتئین در شکمبه (OEB) به صورت زیر محاسبه شد:

$$OEB = MREN - MREE$$

MREN = میزان پروتئین میکروبی تولید شده بر اساس نیتروژن قابل دسترس

MREE = میزان پروتئین میکروبی تولید شده براساس انرژی قابل دسترس

جزئیات بیشتر در رابطه با محاسبه هر یک از بخش ها در مقاله منتشر شده به وسیله تامین‌گا و همکاران (۷) به طور کامل توضیح داده شده است. ارتباط بین ساختار ثانویه مولکول پروتئین با پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه با استفاده از همبستگی پیرسون در نرم افزار SAS تعیین شد. کلیه مراحل آزمایش در دانشگاه ساسکاچوان کانادا انجام شد.

نتایج و بحث

طیف جذب مولکولی پروتئین در طیف سنجی مولکولی مادون قرمز تبدیل فوریه به صورت آمید ۱ و آمید ۲ می باشد. پروتئین آمید ۱ حاصل ارتعاشات کششی C=O و C-N در ناحیه تقریبی 1650 cm^{-1} و پروتئین آمید ۲ در اثر ارتعاشات کششی N-H و C-N در ناحیه تقریبی 1550 cm^{-1} می باشد (۸). پیوندهای هیدروژنی بین گروه کربوکسیل و آمین اسیدهای آمینه در مولکول پروتئین منجر به تشکیل ساختار های ثانویه پروتئین (آلفا هلیکس و صفحات بتا) می شود. این پیوندها در صفحات بتا نسبت به آلفا هلیکس مقاومتر هستند و در نتیجه انتظار می رود که در مقابل فرایندهای هضمی نیز مقاومتر باشند. میانگین نسبت سطح پیک جذب آمید ۱ به ۲ و آلفا هلیکس به صفحات بتا در ارقام جو مطالعه شده در این آزمایش به ترتیب برابر 0.6 ± 0.05 و 0.6 ± 0.01 بود. دمیران و یو (۱۰) نسبت پروتئین آمید ۱ به ۲ در ۴ رقم جو را ۵/۵-۴/۹ گزارش کردند. یو (۴) نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا در ۶ رقم جو را ۲-۱/۴ گزارش کرده است. مقادیر نسبت آمید ۱ به ۲ و آلفا هلیکس به صفحات بتا به دست آمده در این آزمایش با نتایج گزارش شده به وسیله یو و دمیران (۹ و ۱۰) مطابقت داشت. میانگین پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین تامین شده به وسیله ارقام جو در این

آزمایش به ترتیب برابر $81/97 \pm 4/45$ و $24/05 \pm 14/09$ گرم در کیلوگرم ماده خشک بود. میزان پروتئین قابل متابولیسم تحت تاثیر پروتئین میکروبی عبوری از شکمبه، پروتئین عبوری خوراک، پروتئین آندوژنوس و توازن پروتئین در شکمبه نیز تحت تاثیر میزان ماده آلی قابل تخمیر و نیتروژن قابل دسترس برای میکروارگانیسم ها در شکمبه می باشد (۷،۶). توازن منفی پروتئین به دست آمده در این آزمایش نشان می دهد که میزان نیتروژن قابل دسترس برای سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه کم می باشد و نیاز به منابع پروتئینی برای بهبود سنتز پروتئین میکروبی در شکمبه است. یو (۱۱) میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه دو رقم جو را به ترتیب ۸۰-۹۰ و ۹- تا ۰/۴ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش کرده است. دمیران و یو (۱۲) میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه چهار رقم جو را به ترتیب برابر $102/9 - 122/9$ و $17/1 - 37/4$ گرم در کیلوگرم ماده خشک گزارش کردند. تفاوت در نتایج گزارش شده احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع رقم، ترکیب شیمیایی، نوع فرآوری و تفاوت در میزان پروتئین عبوری خوراک، پروتئین میکروبی عبوری و پروتئین آندوژنوس می باشد. همانطور که در مواد و روش اشاره شد میزان پروتئین قابل متابولیسم تحت تاثیر میزان پروتئین میکروبی عبوری، پروتئین عبوری خوراک و پروتئین آندوژنوس می باشد و تفاوت در میزان هر یک از این بخش ها می تواند میزان پروتئین قابل متابولیسم را تحت تاثیر قرار دهد. بررسی ارتباط ساختار مولکولی پروتئین با پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه نشان داد که همبستگی مثبت و معنی داری بین نسبت آمید ۱ به ۲ با میزان پروتئین قابل متابولیسم (جدول ۱؛ $P < 0/05$ ؛ $R = 0/9$) در جو وجود داشت. نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا همبستگی معنی داری با پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین در شکمبه نداشت (جدول ۱؛ $P > 0/05$). دایرون و همکاران (۵) و یو (۳) گزارش کردند که در دانه کتان نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا همبستگی مثبت و معنی داری با میزان پروتئین قابل متابولیسم ($R = 0/95$) و همبستگی منفی ($R = -0/95$) با میزان توازن پروتئین در شکمبه داشت. یو و نئوز (۲) گزارش کردند که در فرآورده های فرعی حاصل از تولید اتانول نسبت آمید ۱ به ۲ همبستگی مثبت با توازن پروتئین در شکمبه داشت ($R = 0/97$) داشت. نتایج به دست آمده در این آزمایش نشان می دهد که ساختار مولکولی پروتئین به لحاظ آمید ۱ و ۲ تاثیر مهمی بر میزان پروتئین قابل متابولیسم تامین شده به وسیله جو در تغذیه گاوهای شیرده دارد و می تواند به عنوان یک شاخص برای بررسی میزان پروتئین قابل متابولیسم تامین شده به وسیله جو در تغذیه گاوهای شیرده استفاده شود.

جدول ۱- همبستگی بین نسبت سطح پیک جذب آمید ۱ به ۲ و نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا با میزان پروتئین قابل متابولیسم و توازن پروتئین شکمبه ای تامین شده به وسیله جو در تغذیه گاوهای شیرده

نسبت آمید ۱ به ۲		نسبت آلفا هلیکس به صفحات بتا		مورد
P	R	P	R	
۰/۱۸	-۰/۶۲	۰/۰۱	۰/۹۰	پروتئین قابل متابولیسم (گرم در کیلوگرم ماده خشک)
۰/۹۷	۰/۰۱	۰/۰۸	-۰/۷۵	توازن پروتئین در شکمبه (گرم در کیلوگرم ماده خشک)

R = ضریب همبستگی، P = احتمال معنی داری در سطح ۵ درصد

منابع

1. Yu, P., J.J. Mckinon., C.R. Christensen and D.A. Christensen. 2004. Using synchrotron-based FTIR microspectroscopy to reveal chemical features of feather protein secondary structure: comparison with other feed protein sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52: 7353-7361.
2. Yu, P and W.G. Nuez-Ortin. 2010. Relationship of protein molecular structure to metabolisable proteins in different types of dried distillers grains with solubles: A novel approach. The British Journal of Nutrition. 104: 1429-37.
3. Yu, P. 2010. Plant-based food and feed protein structure changes induced by gene-transformation, heating and bio-ethanol processing: a synchrotron-based molecular structure and nutrition research program. Molecular Nutrition

- and Food Research .54: 1535-45.
4. Yu , P. 2006. Synchrotron IR microspectroscopy for protein structure analysis: Potential and questions. Spectroscopy. 20: 229-251.
 5. Doiron, K., P. Yu., J.J. Mackinon and D.A. Christensen. 2009. Heat-induced protein structure and subfractions in relation to protein degradation kinetics and intestinal availability in dairy cattle. Journal of Dairy Science. 92: 3319-3330.
 6. NRC, 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Seventh Revised ed.: The National Academies Press.
 7. Tamminga, S., W.M. Van Straalen., A.P.J. Subnel., R.G.M. Meijer., A. Steg., C.J.G. Wever and M.C. Blok. 1994. The Dutch protein evaluation system: the DVE/OEB-system. Livestock Production Science. 40: 139-155.
 8. Jackson, M and H.H. Mantsch. 1995. The use and misuse of FTIR spectroscopy in the determination of protein structure. Critical reviews in biochemistry and molecular biology.30: 5-120.
 9. Yu, P. 2007. Molecular chemical structure of barley proteins revealed by ultra-spatially resolved synchrotron light sourced FTIR microspectroscopy: Comparison of barley varieties. Biopolymers, . 85: 308-317.
 10. Damiran, D and P. Yu. 2010. Comparison of structural makeup of four hullless barley varieties using diffuse reflectance infrared fourier transform (DRIFT) spectroscopy, In Proceeding of Soils and Crops. Saskatoon, SK; Canada.
 11. Yu, P., J.A. Meier., D.A. Christensen., B.G. Rossnagel and J.J. Mckinnon. 2003. Using the NRC-2001 model and the DVE/OEB system to evaluate nutritive values of Harrington (malting-type) and Valier (feed-type) barley for ruminants. Animal Feed Science and Technology. 107: 45-60.
 12. Damiran, D. and P. Yu. 2012. Metabolic characteristics in ruminants of the proteins in newly developed hull-less barley varieties with altered starch traits. Journal of Cereal Science. 55: 351-360.

Relationship of protein molecular structure with metabolizable protein and protein balance in the rumen of dairy cows

Hojjat Gholizadeh^{1*}, Abbas Ali Naserian¹, Reza Valizadeh¹, Abdol Mansour Tahmasbi¹ and Peiqiang Yu²

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad

2- Department of Animal Science College of Agriculture, University of Saskatchewan

* Corresponding E-mail address: Gholizadeh.hojat@gmail.com

Abstract

This study was carried out to investigate the relationship of barley 's protein molecular structure (the ratio of amide I to amide II and the ratio of alpha helix to beta sheets) with metabolizable protein and protein balance in the rumen of dairy cows. The protein molecular structure of barley in terms of amide I, amide II, alpha helix, beta sheets, and their ratio was determined using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. The metabolizable protein and protein balance in the rumen were estimated with DVE/OEB model. The relationship of protein molecular structure with metabolizable protein and protein balance in the rumen was determined using Pearson correlation. The mean of the ratio of amide I to amide II and alpha helix to beta sheets in barley cultivars used in this study were 5.06 ± 0.6 and 1.12 ± 0.06 respectively. Barley cultivars had 81.97 ± 4.45 g/kg DM metabolizable protein and -24.05 ± 14.09 g/kg DM rumen protein balance. The results showed that the ratio of amide I to amide II had positive correlation with metabolizable protein ($R = 0.9$; $P < 0.05$). The ratio of alpha helix to beta sheets had no significant correlation with metabolizable protein and protein balance in the rumen ($P > 0.05$). Results of this study showed that the protein molecular structure in terms of amide I and amide II has an important effect on the metabolizable protein supplied by barley in feeding of dairy cows.

Keywords: Metabolizable protein- protein molecular structure- barley