

WOJCIECH ROSZKOWSKI

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego — Akademia Rolnicza w Warszawie

OKREŚLENIE WARTOŚCI ODŻYWCZEJ NOWYCH PRODUKTÓW BIAŁKOWYCH WEDŁUG ZALECEŃ PAG *)

Z racji istniejącego deficytu żywności, a białka w szczególności, w ciągu ostatnich kilkunastu lat wytworzono szereg nowych produktów białkowych. Przewiduje się także, że ilość ich będzie w dalszym ciągu rosła. Dlatego też istotnym zagadnieniem jest aby z wielu nowych produktów białkowych otrzymywanych na skalę doświadczalną wybrać do dalszej produkcji przemysłowej te, które nie zawierają żadnych szkodliwych dla zdrowia substancji i reprezentują odpowiednią wartość odżywczą.

Ocena żywieniowa nowych produktów białkowych obejmuje szereg różnorodnych metod badawczych, które niekiedy trudno było porównać między sobą. Grupa Doradcza do Spraw Białka przy ONZ (PAG) opracowała szereg zaleceń dotyczących ujednoczonych metod badawczych, które należy wykonać przed wprowadzeniem nowych produktów białkowych do żywności. Zalecenia te zostały opublikowane w formie wytycznych i dotyczą nie tylko metod badawczych, ale i zagadnień technicznych czy ekonomicznych wiążących się z nowymi źródłami białka.

Wyczerpujące informacje na temat zalecanych wstępnych (przedklinicznych) badań nowych produktów białkowych zostały opublikowane w wytycznych PAG nr 6 z marca 1972 r. [1]. Natomiast wytyczne nr 7 z czerwca 1970 [2] poruszają zagadnienia związane z zalecaną metodyką doświadczalnego (klinicznego) żywienia ludzi dietami z nowymi produktami białkowymi. Częściowym uzupełnieniem jest również zalecana metodyka oceny żywieniowej stosowana dla nowych odmian zbóż opublikowana w wytycznych nr 16 z kwietnia 1974 r. [3]. Materiały zawarte w wymienionych wytycznych stanowiły podstawę do niniejszego artykułu.

Poszczególne zalecane metody oceny żywieniowej nowych produktów białkowych można podzielić na następujące grupy metod: 1. Analiza chemiczna; 2. Analiza biochemiczna; 3. Metody biologiczne oceny wartości od-

*) PAG — Protein Advisory Group — Grupa Doradcza do Spraw Białka przy Organizacji Narodów Zjednoczonych i jej agendach.

żywczej białka; 4. Ocena toksykologiczna; 5. Inne analizy; 6. Badania kliniczne.

Analiza chemiczna

Analiza podstawowego składu chemicznego winna obejmować oznaczenie zawartości wody, składników rozpuszczalnych, azotu ogólnego, surowego tłuszczu, popiołu i błonnika oraz węglowodanów (z różnicy). Analiza składników azotowych powinna uwzględniać oznaczenie pełnego składu aminokwasowego białka, zawartości aminokwasów egzogennych (w tym lizyny, tryptofanu i aminokwasów siarkowych), wolnych aminokwasów jak też innych składników azotowych niebiałkowych takich jak amidy, aminy, puryny, piramidyny, sole amonowe itp. oraz zawartości kwasów nukleinowych.

Oznaczenie składu aminokwasowego, głównie aminokwasów egzogennych, jest potrzebne dla określenia współczynnika aminokwasu ograniczającego białko, który wstępnie charakteryzuje wartość odżywczą białka, jednak współczynnik ten nie uwzględnia strawności poszczególnych białek.

Analiza tłuszczu powinna obejmować oznaczenie zawartości trójglicerydów, sterydów i fosfolipidów. Jeżeli zawartość tłuszczu w nowym produkcie przekracza 1% to powinno się oznaczyć skład kwasów tłuszczowych za pomocą chromatografii gazowej ze zwróceniem szczególnej uwagi na zawartość kwasów tłuszczowych o nietypowej rozgałęzionej strukturze. Dodatkowo gdy tłuszcz w produkcie dostarcza istotnych ilości kalorii należy określić proporcję wielonienasyconych do nasyconych kwasów tłuszczowych. W przypadku białka biomasy wyhodowanej na frakcjach ropy naftowej powinno się oznaczyć zawartość sumy węglowodorów aromatycznych (w tym benzopirenu oraz fenoli).

Analiza składników mineralnych powinna obejmować oznaczenia zawartości wapnia, fosforu, żelaza, jodu, metali ciężkich i metali ziem alkalicznych. Dodatkowo w produktach pochodzenia morskiego oraz mikrobiologicznego powinno się oznaczyć zawartość rtęci, arsenu i fluoru, a w koncentratkach białkowych ryb i glonów zawartości nieorganicznej rtęci.

Analiza witamin powinna obejmować te produkty, w których spodziewana jest ich istotna zawartość. Byłoby również celowe oznaczenie zawartości witamin w produktach, w których zawartość pewnych składników wymaga obecności określonych witamin dla ich stabilności np. określenie poziomu wit. E w produktach zawierających wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Oznaczając substancje dodawane do żywności, powinno się określić zawartość tych składników (dodawanych do badanych produktów białkowych) dla których są opracowane normy ograniczające.

Oznaczenie innych składników uzależnione jest od surowca i metod technologicznych stosowanych do wytwarzania produktu. Dlatego też zaleca się w niektórych przypadkach wykonanie dodatkowych analiz dla:

- pozostałości rozpuszczalników takich jak chlorowane i pierścieniowe węglowodory,
- pozostałości pestycydów,
- innych naturalnych substancji toksycznych charakterystycznych dla danego surowca przeznaczonego do produkcji białka takich jak: gosypol, hemaglutyniny czy związki toksyczne pochodzące z organizmów morskich.

Określenie wpływu technologicznego na wytwarzany produkt (działanie temperatury) można sprawdzić nie tylko przez oznaczenie dostępnej lizyny ale również przez spektrofotometryczne określenie zawartości związków typu Maillarda. W przypadku niektórych produktów białkowych (np. otrzymywanych z roślin strączkowych) wpływ temperatury określa się przez oznaczenie termolabilnych związków takich jak np. inhibitory tripsyny względnie oznaczanie aktywności enzymu ureazy. Oznaczenie poziomu lizylo-alaniny może dostarczyć informacji o wpływie odczynu zasadowego na produkt.

Analiza biochemiczna

W zakresie tych metod zaleca się oznaczenie strawności „*in vitro*” za pomocą pepsyny lub pepsyny z tripsyną.

Metody biologiczne oceny wartości odżywczej białka

Wspomniane wcześniej oznaczenia chemiczne niezupełnie określają wartość odżywczą białka w porównaniu do metod biologicznych. Najbardziej przydatne oprócz określenia strawności pozornej i rzeczywistej są tu metody oznaczania współczynników wzrostowych lub bilansowych na zwierzętach doświadczalnych, najczęściej szczurach.

Wydajność wzrostowa białka (Protein Efficiency Ratio — PER). W metodzie tej oznacza się stosunek przyrostu ciężaru ciała do spożytego białka. Jest to metoda stosunkowo prosta i nie wymagająca zbyt wielu oznaczeń chemicznych. Modyfikacją tej metody jest metoda NPR (Net Protein Ratio), w której końcowy ciężar szczurów w grupach doświadczalnych jest obliczany w stosunku do końcowego ciężaru szczurów otrzymujących w tym samym czasie dietę bezbiałkową. Inną modyfikacją metody PER jest metoda RPV — (Relative Protein Value), w której oblicza

się proporcję przyrostu ciężarów szczurów żywionych dietami z różnym poziomem badanego białka do przyrostu ciężaru szczurów otrzymujących dietę z różnymi poziomami białka kontrolnego. Ta ostatnia metoda jest zalecana do oceny wartości odżywczej białka nowych odmian zbóż.

Wykorzystanie białka netto (Net Protein Utilization) opiera się na oznaczeniu stosunku azotu zatrzymanego w tuszach szczurów do spożytego. Metoda ta jest stosunkowo szybka i nie wymaga dużej ilości badanego materiału i jest szeroko stosowana przy ocenie nowych produktów białkowych.

Współczynnik wartości biologicznej białka oznaczony za pomocą bilansu azotu. Metoda ta opiera się na pomiarze stosunku azotu zatrzymanego w tuszy do wchłoniętego (strawionego) i wymaga oznaczenia azotu spożytego, wydalonego z kałem i moczem zarówno u zwierząt otrzymujących diety z badanym białkiem jak również u zwierząt otrzymujących dietę bezbiałkową. Metoda ta jest pracochłonna i stosowana w bardziej szczegółowych badaniach żywieniowych.

Przy interpretacji uzyskanych wyników w doświadczeniach na zwierzętach należy pamiętać, że tego typu oznaczenia nie w pełni odzwierciedlają realną wartość odżywczą białka produktu przeznaczonego do wykorzystania w żywieniu człowieka. Jest to spowodowane między innymi różnicami gatunkowymi pomiędzy ludźmi i zwierzętami doświadczalnymi, błędami powstałymi przy oznaczaniu strat azotu endogennego oraz porównywaniem nie zupełnie zbilansowanych diet doświadczalnych i kontrolnych. Poza tym w wymienionych oznaczeniach stosuje się w większości diety zawierające białka głównie jednego produktu podczas gdy w praktyce spożywane białko pochodzi jednocześnie z wielu źródeł. Niemniej metody biologiczne oceny wartości odżywczej białka w porównaniu z innymi oznaczeniami np. chemicznymi czy mikrobiologicznymi dają wyniki najbardziej zbliżone do realnych wartości odżywczych białka przeznaczonego do żywienia człowieka.

Ocena toksykologiczna

Naturalne substancje toksyczne. W produktach białkowych pochodzenia roślinnego powinno się uwzględniać możliwość występowania naturalnych substancji toksycznych: rakotwórczych (w niektórych orzechach), wolotwórczych (w kapustnych), hemaglutynujących (w niektórych strączkowych), lityrotwórczych (w odmianach wyki i niektórych odmianach groszku), glikozydów (niektóre orzechy i fasole) i estrogenów (w niektórych nasionach i liściach). Również w produktach białkowych pochodzenia morskiego (ryby, skorupiaki, glony z wód tropikalnych) mogą

znajdować się różne toksyczne substancje. Naturalne substancje toksyczne można usunąć lub unieszkodliwić przez odpowiednią selekcję surowca, wybór właściwej metody przechowywania, odpowiednią obróbkę technologiczną i zastosowanie wielu innych metod.

Zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Nowe produkty białkowe powinny być zbadane na obecność drobnoustrojów wskazujących na mikrobiologiczne zanieczyszczenie surowca lub nieodpowiednie warunki sanitarne w czasie produkcji. Szczególnie winno zwracać się uwagę na obecność drobnoustrojów takich jak *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus* i *Clostridium*. W przypadku produktów, które przechowywane były w warunkach wilgotnych powinno się analizować je na obecność aflatoksyn jako związków szczególnie rakotwórczych.

Ocena toksykologiczna produktów białkowych na zwierzętach. Najczęściej krótkoterminowe badania toksykologiczne trwają 3—6 miesięcy, a długoterminowe od 1 do 2 lat. Do tego typu doświadczeń używa się szczurów lub rzadziej myszy ze względu na mniej znane zapotrzebowanie myszy na składniki odżywcze, jak również ich mały rozmiar ciała uniemożliwiający otrzymanie dostatecznej ilości materiału do dalszych badań. W krótkoterminowych doświadczeniach używa się czasami i innych gatunków zwierząt jak małpy lub psy. W wypadku szczurów doświadczenie rozpoczyna się na młodych zwierzętach odstawionych od matek, dzieląc je na grupy o równej liczbie osobników obojga płci z różnych miotów. Ciężary poszczególnych grup powinny być maksymalnie wyrównane. W doświadczeniach krótkoterminowych grupy powinny liczyć po 10 do 15 zwierząt każdej płci, a w długoterminowych 20 do 30 zwierząt każdej płci. Przy produktach potencjalnie rakotwórczych stosuje się podwojoną liczbę zwierząt w grupach doświadczalnych. W przypadku produktów białkowych przeznaczonych do żywienia dzieci zaleca się niekiedy stosowanie doświadczeń na zwierzętach młodych, kilkudniowych ponieważ tego typu organizmy stosunkowo łatwo reagują na substancje toksyczne nie mając w pełni wykształconych zdolności metabolizowania i detoksykacji tych związków z organizmu.

W trakcie badań powinno się wykonywać różnorodne analizy, których zakres i częstotliwość podaje tab. 1.

W niektórych wypadkach gdy zachodzi podejrzenie obecności w produkcie nieznanych szkodliwych dla zdrowia składników zaleca się wykonanie badań funkcjonalnych wątroby, przewodu pokarmowego, nerek jak również badań bilansowych. Niekiedy też stosuje się wielopokoleniowe badania reprodukcji i laktacji oraz wpływu mutacyjnego i teratogennego badanych produktów białkowych.

Typowe analizy stosowane w badaniach toksykologicznych na zwierzętach

Badanie lub oznaczenie	Częstotliwość w doświadczeniu	
	krótkoterminowym (3 mies.)	długoterminowym (2 lata)
Wygląd zewnętrzny	codziennie	codziennie
Zachowanie się	”	”
Ciężar ciała	co tydzień	co tydzień
Spożycie diety	”	”
Oznaczenie we krwi		
— hemoglobiny	po 0, 4, 8, 12 tygodniach	po 1, 3, 6, 9, 12, 18, 24 miesiącach
— hematokrytu		
— leukocytów		
— płytek krwi		
— retikulocytów		
— glukozy		
— azotu mocznikowego		
— białka ogółem		
— stosunku albumin do globulin		
— trójglicerydów		
— cholesterolu		
— transaminaz AspAT AlAT		
— kwasu moczowego		
— alantoiny		
Oznaczenie w moczu:		
— objętości, pH, ciężaru właściwego	”	”
— glukozy		
— białka		
— ciał ketonowych		
— barwników żółciowych		
— krwi utajonej		
— osadów		
Autopsja (padłych lub uśpionych zwierząt):		
— określenie zmian patologicznych	okresowo	okresowo
— ciężary narządów: wątroby, nerek, serca, mózgu, śledziony, gonad, nadnerczy, przysadki mózgowej, tarczycy,		
— określenie zmian histopatologicznych w 20 organach i tkankach. Badanie wątroby i nerek pod mikroskopem elektronowym		

Należy podkreślić, że zakres badań toksykologicznych jest uzależniony od stopnia nowości badanego białka (niekonwencjonalne surowce, nowe metody produkcji).

Inne analizy

Przed zastosowaniem nowych produktów białkowych w żywieniu ludzi oprócz wymienionych badań powinno się uwzględnić: a) koszty ekonomiczne wytwarzania nowych produktów białkowych, b) dostępność surowca, możliwość produkcji na szeroką skalę przemysłową, niezbędne opakowania, trwałość itp., c) efekt dodania nowych produktów do dotychczas stosowanych diet (ich wartość odżywcza, właściwości fizyczne: rozpuszczalność, lepkość, zdolność emulgowania, wodochłonność itp.).

Badania kliniczne

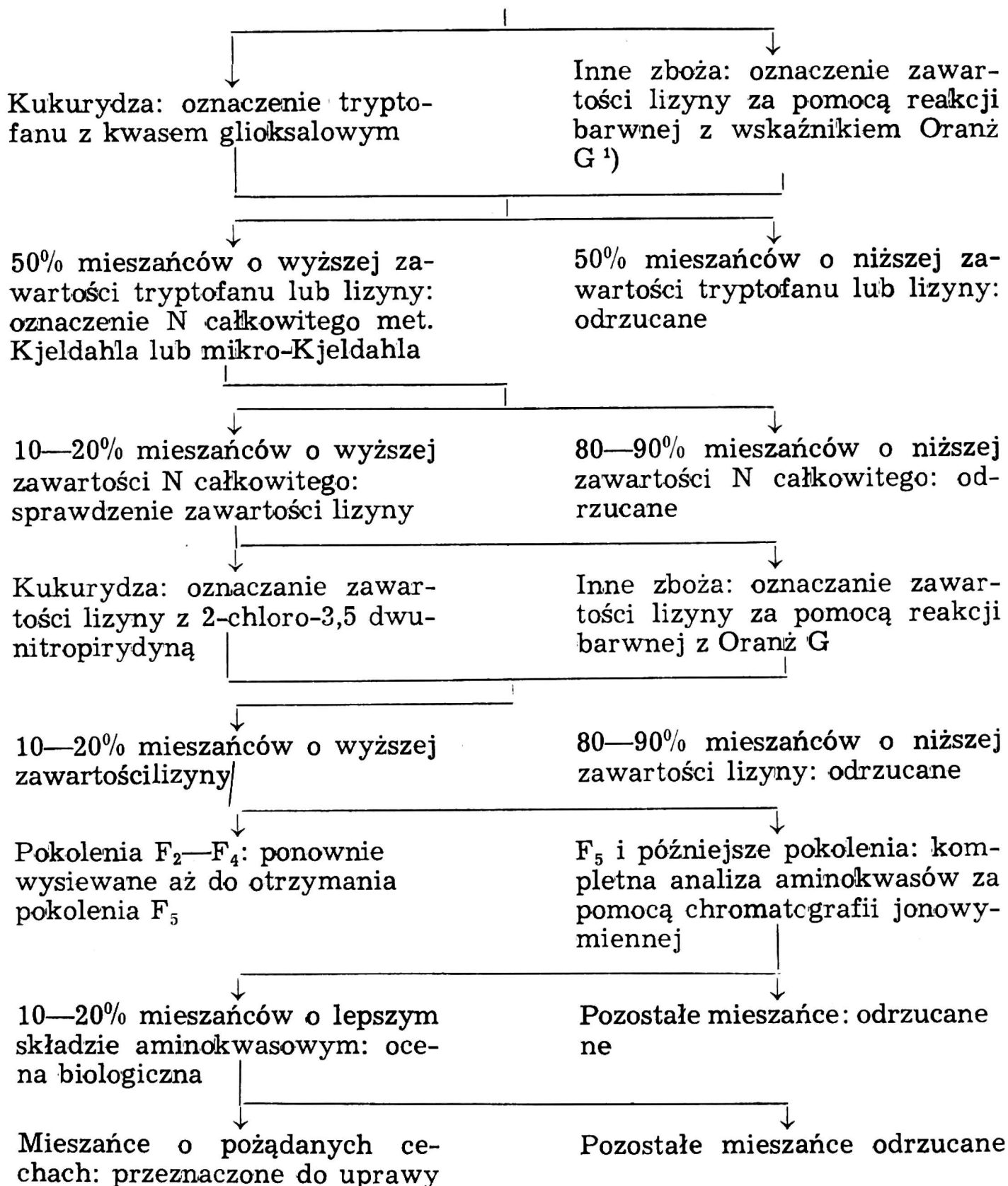
Doświadczalne żywienie ludzi (przeważnie w warunkach klinicznych) dietami z nowymi produktami białkowymi powinno być poprzedzone wcześniej opisanymi badaniami przedklinicznymi.

Badania kliniczne powinny uwzględniać: a) test tolerancji i akceptowania przez ludzi nowych produktów białkowych uwzględniający takie obserwacje jak zaburzenia żołądkowe czy objawy alergiczne, b) analizę przyrostu ciężaru ciała i wzrostu, c) bilans azotowy, d) inne badania jak: oznaczenie stosunku albumin do globulin w surowicy krwi, określenie składu aminokwasowego białek osocza oraz aktywności niektórych enzymów, a także oznaczenie ilości wydalanej kreatyniny.

Jednakże nie wszystkie nowe produkty białkowe muszą przejść próby kliniczne. Jeżeli surowiec był dotychczas używany w żywności, a proces technologiczny potencjalnie nie wpłynie na toksyczność końcowego produktu, wówczas wystarczą tylko oznaczenia wartości odżywczej białka na zwierzętach (NPU lub PER), wstępne testy akceptowania i tolerancji produktu przez ludzi. Gdy produkt białkowy jest wytwarzany ze znanego surowca ale przy zastosowaniu dotychczas nie stosowanej być może szkodliwej metody produkcji, wówczas zalecane są odpowiednie analizy chemiczne, biochemiczne, biologiczne i toksykologiczne oraz wstępne testy akceptowania i tolerancji. Dłuższe badania kliniczne w tym wypadku nie są wymagane. Natomiast gdy surowiec jest dotychczas nieznanymi i przerabiany przy zastosowaniu zupełnie nowych metod technologicznych to taki produkt musi przejść wszystkie opisane etapy badań. Po-

Schemat stosowanych analiz chemicznych i biologicznych przy selekcji mieszańców zbóż pod kątem zawartości w nich białka i jego wartości biologicznej.

F₂ i kolejne pokolenia
mieszańców



¹⁾ Oranż G (Oranż 12) — Sól sodowa kwasu 1-fenylo-2-naftolo sulfonowego

dejscie do każdego rodzaju produktu z wymienionych powodów musi być indywidualne. Przykładem specyficznego rozwiązania tego zagadnienia są metody oceny ilości i jakości białka stosowane przy selekcji genetycznej nowych odmian zbóż.

W zależności od stopnia selekcji mieszańców metody te są zróżnicowane. W pierwszym etapie do wczesnych pokoleń mieszańców stosuje się proste metody chemiczne. Metody te pozwalają na wybranie odmian o wysokiej zawartości lizyny i tryptofanu, aminokwasów ograniczających białko w zbożach i kukurydzy. Następnym etapem, na częściowo wyselekcjonowanym materiale, jest oznaczenie ilości białka (azotu ogólnego) a po kolejnej selekcji oznaczenie pełnego składu aminokwasowego. Wybrane na podstawie wymienionych kryteriów mieszańce przed wytypowaniem do szerszej uprawy oceniane powinny być metodami biologicznymi. Zestawienie schematyczne stosowanych analiz kolejnych pokoleń mieszańców przedstawiane jest na schemacie (str. 28).

Jak wynika z niniejszego przeglądu zakres oceny wartości odżywczej nowych produktów białkowych jest szeroki i różnorodny. Wydaje się jednak, że jest on konieczny jeśli badany produkt ma służyć jako ważny składnik diet żywienia ludzi.

LITERATURA

1. Guideline 6: For preclinical testing of novel sources of protein, PAG Bulletin 4 (3) 17—31, 1974.
2. Guideline 7: For human testing of supplementary food mixtures w książce Single cell protein II (Tannenbaum S.R., Wang D.J.C. — wyd.), MIT Press Cambridge, Massachusetts and London 1975.
3. Guideline 16: On protein methods for cereal breeders as related to human nutritional requirements, PAG Bulletin 5 (2) 22—48, 1975.

Od 6 do 8 czerwca 1972 r. odbyła się w Massachusetts Institute of Technology (MIT) w Bostonie (USA) międzynarodowa konferencja, której przedmiotem były aspekty ekonomiczne marketingowe i technologiczne otrzymywania i stosowania koncentratów rybnych. W dwa lata później ukazała się książka¹⁾ będąca wybranym zbiorem wygłoszonych referatów, które zostały przez autorów poszerzone i uzupełnione.

Książka podzielona jest na pięć części: surowce, technologia otrzymywania koncentratów, ich wartość odżywcza, zastosowanie oraz aspekty ekonomiczne. Całość obejmuje 27 rozdziałów (referatów). Stosunkowo dużo miejsca poświęcono zagad-

¹⁾ The Economics, Marketing, and Technology of Fish Protein Concentrate, Tannenbaum S.R.S., Tillings B.R. i Scrimshaw N.S.; wyd. MIT Press, Cambridge Mass. i London England, 1974.

nieniom związanym z surowcem do produkcji koncentratów. Sprawa jest o tyle ważna, że obecnie wiele gatunków ryb jest już wyeksploatowanych, a planowane ograniczenia na terenach połowowych zmniejszają wielkość uzyskiwanego surowca. Zawsze będzie pewien procent odłowionych ryb, które nie nadają się bezpośrednio do spożycia i są przeznaczone na mączkę paszową. Bardziej ekonomicznym sposobem jest skierowanie tego surowca do produkcji konsumpcyjnych koncentratów białkowych.

Autorzy uważają, że w perspektywie należy uwzględnić surowce pochodzenia morskiego, które dotychczas nie były wykorzystywane na cele spożywcze np. kryll z mórz wokół bieguna południowego.

Kolejny szeroki dział publikacji jest poświęcony zagadnieniom technologicznym. Obecnie w badaniach laboratoryjnych i w produkcji pilotowej procesem najszerzej stosowanym w technologii otrzymywania rybnych koncentratów białkowych jest ekstrakcja surowca alkoholem izopropylowym. W oparciu o tę metodę zbudowano szereg wytwórni w Afryce Południowej, Peru, USA, jednak nie pracują one na większą skalę (z wyjątkiem firmy Nabisco Astra Nutrition Inc-USA). Zahamowanie rozwoju produkcji jest spowodowane głównie wysokością kosztów wytwarzania oraz słabymi właściwościami funkcjonalnymi otrzymanego preparatu.

W dalszych częściach książki omawiane są sprawy obniżenia kosztów produkcji koncentratów oraz polepszenia cech funkcjonalnych. Koszty produkcji można obniżyć przez użycie tańszych gatunków ryb i zmianę dotychczasowej kosztownej (łańcuch chłodniczy) obróbki wstępnej, a także przez zastosowanie przy odwanianiu i odbarwianiu końcowego produktu tanich procesów utleniania i redukcji. Ponadto koszty produkcji mogą być zmniejszone przez budowę odpowiedniej wielkości zakładu i maksymalną jego pracę w ciągu roku. Drugi czynnik ograniczający obecną produkcję — słabe właściwości funkcjonalne koncentratu jest spowodowany wysoką wrażliwością białka ryb na temperaturę w czasie ekstrakcji. Efekt procesu denaturacji można częściowo ograniczyć przez zastosowanie alkaliów lub specyficznych enzymów stosowanych przed suszeniem oczyszczonego białka.

Mimo iż książka zawiera materiały z sympozjum w 1972 roku jednak obejmuje zagadnienia stosunkowo słabiej znane polskim czytelnikom i może pomóc w rozwiązywaniu innych aktualnych problemów z dziedziny technologii rolno-spożywczej.