

OCENA WARTOŚCI BIOLOGICZNEJ BIAŁEK ZA POMOCĄ METOD BIOCHEMICZNYCH

Krystyna Pierzchała, Anna Antoniewicz, Jerzy Koreleski

Zakład Żywienia Zwierząt Instytutu Zootechniki w Krakowie
Kierownik Zakładu: prof. dr R. Ryś

Aktywność niektórych enzymów oraz zawartość kwasów nukleinowych w wątrobie może stanowić wskaźnik przyswojenia białka w organizmie. Wirthgen i wsp. [13], Weber i wsp. [12] oraz Dror i Gertler [4] podają istnienie zasadniczej zgodności pomiędzy wielkością aktywności arginazy oraz aminotransferaz alaninowej (GPT) i asparaginianowej (GOT) w wątrobie szczurów, a wartością biologiczną białka zadawanego im w paszy. Podobną zależność obserwowali Zigman i Allison [15], Allison i wsp. [1, 2] oraz Pachelska i wsp. [9] dla stosunku zawartości kwasu rybonukleinowego do kwasu dezoksyrybonukleinowego (RNA/DNA).

W poprzedniej pracy [8] badano wpływ dodatku syntetycznych aminokwasów na polepszenie wartości odżywczej białka odgoryczonej śruty rzepakowej oznaczanej przy użyciu szczurów laboratoryjnych. Równoległe z oznaczeniami mierników wartości odżywczej białka (NPU, NPR i BV) prowadzono oznaczenia zawartości kwasów nukleinowych oraz aktywności arginazy i aminotransferaz. W ramach niniejszej pracy porównano wyniki testów biologicznej oceny wartości odżywczej białka odgoryczonej śruty rzepakowej na szczurach z wynikami oznaczeń aktywności wymienionych enzymów i zawartości kwasów nukleinowych w wątrobie u tych zwierząt.

MATERIAŁ I METODA

A. Badania biologiczne na rosnących szczurach laboratoryjnych polegały z jednej strony na określeniu mierników wartości odżywczej białka odgoryczonej śruty rzepakowej z dodatkiem syntetycznych aminokwasów a z drugiej na równoczesnym lub równoległym badaniu poziomu arginazy i aminotransferaz oraz RNA i DNA w wątrobie. Jako białka odniesienia użyto pełnego proszku z jaj. Odgoryczona śruta rzepakowa lub proszek z jaj stanowił jedyne źródło białka w diecie szczurów, przy czym zawartość tego składnika wynosiła 10%.

Doświadczenie 1. Po ukończeniu badań bilansowych opisanych w poprzedniej pracy [8], szczury pozostałe po doświadczeniu przeniesiono grupami do wspólnych klatek i żywiono *ad libitum* tymi samymi dawka-

mi. Grupa I otrzymywała w dawce odgoryczoną śrutę rzepakową, grupa II śrutę z dodatkiem DL-metioniny, grupa III śrutę z dodatkiem DL-metioniny i L-lizyny a grupa IV proszek z całych jaj kury. Po 13, 15 i 17 dniach doświadczenia zwierzęta zabijano (po 2 szt. z każdej grupy co drugi dzień) i pobierano wątroby do oznaczeń kwasów nukleinowych.

Doświadczenie 2. Przeprowadzono na trzech grupach szczurów (po 6 szt. w każdej) trzymanyh we wspólnych klatkach i żywionych do woli dawkami zawierającymi: grupa I — odgoryczoną śrutę rzepakową, grupa II — śrutę z dodatkiem DL-metioniny i L-lizyny oraz grupa III — proszek z całych jaj kury. Po 10, 12 i 14 dniach doświadczenia zwierzęta zabijano (po 2 sztuki z każdej grupy co drugi dzień) i pobierano wątroby do oznaczeń aktywności enzymów.

Szczegółowy opis diet używanych w doświadczeniu podano w poprzedniej pracy [8]. W doświadczeniu 1 użyto śruty nr 1, a w doświadczeniu 2 śruty nr 2.

B. Zwierzęta zabijano przez ogłuszenie i skrwawienie. Natychmiast pobierano wątrobę i chłodzono w mieszaninie suchy lód — etanol. Z części wątroby przygotowywano 10% homogenat podstawowy w wodzie redestylowanej w 2°C przy użyciu homogenizatora szklanego. W homogenacie podstawowym oznaczano zawartość kwasu rybonukleinowego (RNA) i dezoksyrybonukleinowego (DNA) [6, 10] zmodyfikowaną metodą Schmidta i Thannhausera [10], aktywność arginazy metodą Greenberga [7] oraz azot ogólny metodą Kiejdahla. Fosfor kwasów nukleinowych oznaczano metodą Fiske-Subbarowa [5]. Do oznaczeń aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej metodą Wróblewskiego [3, 14], homogenat podstawowy rozcieńczano do końcowego stężenia 0,1% 0,1 m buforem fosforanowym o pH 7,4.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki uzyskane w doświadczeniu I podano w tabeli 1. Zawartość RNA w wątrobie szczurów jest najmniejsza w grupie otrzymującej śrutę rzepakową jako jedyne źródło białka (grupa I), a największa w grupie żywionej dietą opartą na proszku jajecznym (grupa IV).

W grupach, które otrzymywały śrutę rzepakową z dodatkiem aminokwasów egzogennych — DL-metioniny (grupa II) oraz DL-metioniny i L-lizyny (grupa III), zawartość RNA jest wyższa niż w grupie I. Zawartość DNA (w przeliczeniu na g świeżej tkanki) zmniejsza się w miarę poprawy jakości białka diety i różnice są statystycznie istotne w grupie III i wysoko istotne w grupie IV. Stosunek RNA/DNA wzrasta w miarę polepszania się zbilansowania aminokwasów i ten wzrost ma w wypadku grup III i IV charakter statystycznie wysoko istotny.

Wyniki uzyskane w doświadczeniu II zestawiono w tabeli 2. W miarę poprawiania się składu aminokwasowego białka dawki, obniżał się poziom

Tabela 1

Wyniki oznaczania zawartości kwasów nukleinowych w wątrobie szczurów
The results of determinations of nucleic acids in rat liver

Nr grupy Groups	Źródło białka w dawce Source of protein in diet	Przyrost ciężaru g/sztuka/dzień Weight gain g/head/day	RNA mg P/100 g świeżej tkanki RNA mg P/100 g fresh tissue	DNA mg P/100 g świeżej tkanki DNA mg P/100 g fresh tissue	$\frac{\text{RNA}}{\text{DNA}}$
I	Odgoryczona śruta rzepakowa Processed rape seed meal	0,62	69,0 ±9,21	16,7 ±2,11	4,11
II	Odgoryczona śruta rzepakowa + DL-metionina Processed rape seed meal + DL-methionine	1,38	75,6 ±8,31	15,5 ±2,77	4,71
III	Odgoryczona śruta rzepakowa + DL-metionina + + L-lizyna Processed rape seed meal + DL-methionine + + L-lysine	1,41	78,6 ±6,25	14,8 ^x ±0,89	5,30 ^{xx}
IV	Pełny proszek jajeczny Whole egg powder	3,40	82,4 ±3,32	13,9 ^{xx} ±0,81	5,96 ^{xx}

arginazy i amino-transferazy alaninowej w wątrobie (w pierwszym przypadku różnica statystycznie wysoko istotna).

W oparciu o stwierdzone aktywności oznaczanych enzymów obliczono wskaźniki, które wg Wirthgen i wsp. [13] są miarą wartości odżywczej białka:

$$\text{wskaźnik wartości odżywczej białka badanego } W_b = \frac{\text{aktywność enzymu w grupie otrzymującej białko jaja}}{\text{aktywność enzymu w grupie otrzymującej białko badane}} \times \text{wartość biologiczna białka jaja}$$

Można zauważyć, że wskaźniki obliczone w oparciu zarówno o aktywność arginazy jak i amino-transferaz, wykazują zgodność z biologicznymi oznaczeniami wartości odżywczej białka (BV) na szczurach. Zgodność ta jest szczególnie wysoka w przypadku GPT, gdzie wartości obliczonego wskaźnika są identyczne z wartościami BV. Natomiast aktywność trans-

Tabela 2

Wyniki oznaczeń aktywności arginazy, aminotransferaz alaninowej (GPT) i asparaginianowej (GOT) w wątrobie szczurów oraz wskaźniki wartości odżywczej białka obliczone w oparciu o poziom enzymu

The results of determinations of the activities of arginase and of alanine (GPT) and aspartate (GOT) aminotransferases in rat liver as well as the indicators of protein nutritive value calculated from enzyme activities

Nr grupy Groups	Źródło białka w dawce Source of protein in diet	Przyrost ciężaru g/sztuka/dzień Weight gain g/head/day	Arginaza mg mocznika		GPT jedn. Wróblewskiego		GOT jedn. Wróblewskiego	
			BV	W ^b Arginase mg urea 0,1 mg protein	W ^b 0,1 mg białka GPT W. units 0,1 mg protein	W ^b 0,1 mg białka GPT W. units 0,1 mg protein	W ^b 0,1 mg białka GOT W. units 0,1 mg protein	
I	Odgoryczona śruta rzepakowa Processed rape seed meal	0,82	67,8	0,18 ^{xx} ±0,01	63,9	27,5 ±3,6	68,3	76,6 ±3,1
II	Odgoryczona śruta rzepakowa + DL-metionina + L-lizyna Processed rape seed meal + DL-methionine + L-lysine	2,04	74,5	0,14 ±0,007	82,6	24,9 ±2,9	75,5	84,2 ±5,5
III	Pełny proszek jajeczny Whole egg powder	3,90	88,8	0,13 ±0,004	88,8	21,2 ±2,6	88,8	91,6 ±6,6

ferazy asparaginianowej nie wykazuje zależności od wartości odżywczej białka, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów.

W tabelach 1 i 2 podano również dla orientacji kształtowanie się przyrostów ciężaru ciała szczurów w czasie karmienia ich odpowiednimi dietami o różnym stopniu zbilansowania aminokwasów.

WNIOSKI

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy stanowią potwierdzenie cytowanej w literaturze zależności pomiędzy wartością odżywczą białka a stosunkiem RNA/DNA, aktywnością arginazy i aminotransferazy alaninowej w wątrobie szczurów. W miarę wzbogacania białka śruty rzepakowej dodatkiem syntetycznej metioniny i lizyny następował wzrost stosunku RNA/DNA oraz spadek aktywności enzymów związanych z przemianą wolnych aminokwasów w wątrobie. Nasuwa się wniosek, że istnieje możliwość stwierdzenia stanu zaopatrzenia organizmu w aminokwasy egzogenne w oparciu o oznaczenia powyższych mierników w wątrobie zwierząt.

LITERATURA

1. Allison J. B., Wannemacher R. W., Banks W. L., Wunner W. H., Gomez-Brenes R. A., 1962. *J. Nutrition* 78, 33.
2. Allison J. B., Wannemacher R. W., Banks W. L., Wunner W. H., 1964. *J. Nutrition* 84, 383.
3. Cabaud P., Leeper R., Wróblewski F., 1956. *Am. J. Clin. Path.* 26, 101.
4. Dror Y., Gertler A., 1967. *J. Nutrition* 93, 401.
5. Fiske C. H., Subbarow Y., 1925. *J. Biol. Chem.* 66, 375.
6. Fleck A., Munro H. H., 1962. *Biochim. biophys. Acta* 55, 571.
7. Greenberg D. M., 1955. *Methods in Enzymology II*. S. Colowick, N. Kaplan, rozdz. 49, 368, New York.
8. Koreleski J., Hanczakowski P., Krasnodębska I., Ryś R., *Możliwości polepszenia wartości pokarmowej odgoryczonej śruty rzepakowej przez dodatek syntetycznych aminokwasów. Roczn. Nauk rol. (w druku).*
9. Pachelska B., Pyjek M., Kornacki S., Berger S., 1968. *Zeszyty Naukowe SGGW* 5, 77.
10. Schmidt G., Thannhauser S. J., 1945. *J. Biol. Chem.* 161, 83.
11. Steele W. J., Okamura N., Bush H., 1964. *Biochim. biophys. Acta* 87, 490.
12. Weber C. W., Bemis W. P., Berry J. W., Deutschman A. J., Reid B. L., 1969. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 130, 761.
13. Wirthgen B., Bergner H., Münchow H., 1967. *Archiv für Tierernährung* 17, 281.
14. Wróblewski F., Cabaud P., 1957. *Am. J. Clin. Path.* 27, 235.
15. Zigman S., Allison J. B., 1959. *Cancer Reas.* 19, 1105.

К. Пижхала, А. Антоневиц, Е. Корелески

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ БЕЛКОВ БИОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Резюме

На примере рапсовой дерти, дополняемой синтетическими аминокислотами, сравнивали результаты тестов биологической оценки питательной ценности белка на крысах с активностью аргиназа, трансферазов, а также с содержанием RNA в печени этих животных. Было поведено два опыта, в которых крысы получали вволю рационы содержащие: рапсовую дерть лишенную горечи, дерть с добавкой DL-метионина, а также дерть с добавкой DL-метионина и L-лизина. Контрольная группа получала целые куриные яйца в виде порошка. Уровень белка в дозах составлял 10%. Одновременно определяли питательную ценность белка общепринятыми методами (BV, NPR и NPU).

Установлено, что, по мере увеличения питательной ценности белка, в печени увеличивается соотношение RNA/DNA а уменьшается активность исследуемых энзимов. Основываясь на определенной уже активности энзимов, высчитали показатели питательной ценности белка, которые достигали ценности близкой к биологической ценности BV. Полученные результаты наводили на мысль о возможности установления уровня снабжения организма экзогенными аминокислотами на базе биохимических тестов.

K. Pierzchała, A. Antoniewicz, J. Koreleski

BIOLOGICAL VALUE OF THE PROTEINS ESTIMATED BY BIOCHEMICAL METHODS

Summary

The results of arginase and aminotransferases activity estimations and RNA/DNA ratio in rat liver were compared to nutritive value of dietary protein. In two experiments with growing rats 4 types of diets were given *ad libitum*, containing as a sole source of protein-processed rape seed meal, this meal supplemented with DL-methionine, and both DL-methionine with L-lysine, and whole egg powder.

In parallel experiments (published in previous paper) estimations of BV, NPR, and NPR values were made with growing rats. It was shown that increase of RNA/DNA ratio and decrease of tested enzymes activity were parallel to increase in nutritive value of dietary protein. Values calculated support the relation between the enzymes activity in first three groups of animals and BV values of dietary protein.

Results have confirmed the possibility to compare a state of provision the rats in dietary amino acids by biochemical way.