

Białka

Metody oznaczeń

Bromatologia wykład 3



Białka

Wielkocząsteczkowe związki azotowe zbudowane z aminokwasów.

Nie mogą być zastąpione innymi składnikami odżywczymi

Rola białka w organizmie

- Główny element strukturalny komórki
- Biokatalizatory, regulatory ekspresji genów
- Przeciwciała – wpływ na układ immunologiczny (*immunoglobuliny- IgG, IgM, IgE*)
- Elementy kurczliwe mięśni (*miozyna, aktyna*)
- Utrzymanie ciśnienia onkotycznego (*białka krwi - albuminy*)
- Substancje transportujące (*hemoglobina, białka osocza*)
- Procesy widzenia (*opsyna*)
- Synteza hormonów peptydowych (*insulina, oksytocyna*)
- Synteza neuroprzekazników (*fenyloalanina - - > adrenalina; tryptofan - -> serotonina*)

Źródła białka w diecie (na 100g produktu)

Tzw. białka pełnowartościowe – pochodzenia zwierzęcego

- **Mięso:** Cielęcina, królik – ok. 20 g; Wieprzowina – 15–20 g (boczek – 10g); Wołowina – 17–21g; Podroby – 17–23 g; Drób – 16–20 g; Wędliny – 15 – 20 g

- Sery żółte, twarogowe – 10–29 g
* Mleko – 3,3–3,5 g
- Jaja – 12 g

- Ryby – 16–21g

Białka pochodzenia roślinnego (na 100 go produktu):

- Soja (34 g); Fasola, soczewica (ok. 25g)
- Pieczywo – śr. 6–10 g
- Dynia, słonecznik pestki – ok. 25 g
- Kasze: gryczana (10,5g), jaglana (12,6g)

Jakość białka pokarmowego zależy od:

- zawartości aminokwasów egzo- i endogennych,
- wzajemnych proporcji aminokwasów egzogennych (powinny być zbliżone do proporcji występującej w białkach ustrojowych),
- dowozu energii do procesów syntezy białka (24 kcal/ 1g białka)
- strawności produktów białkowych (stopień rozkładu enzymat. w procesie trawienia).

Aminokwasy egzogenne

- (Histydyna – u niemowląt)
- Fenyloalanina
- Izoleucyna
- Leucyna
- Metionina
- Treonina
- Tryptofan
- Walina
- Lizyna

Względnie egzogenne:

- Arginina (glutaminian, asparaginian)
- Cysteina (metionina, seryna)
- Glutamina (kwas glutaminowy)
- Prolina (glutamina)
- Tyrozyna (fenyloalanina)

Tabela . Skład aminokwasowy białek wzorcowych (w mg/g N)

Nazwa aminokwasu	Białko mleka krowiego	Białko mleka kobiecego	Wzorcowe białko jaja	Prowizoryczne białko wzorcowe FAO 1973	Białko wzorcowe FAO 1991
Izoleucyna	294	288	415	250	175
Leucyna	594	581	553	440	412
Lizyna	488	416	403	340	362
Metionina + Cysteina	206	263	346	220	156
Fenylalanina + Tyrozyna	637	450	627	380	393
Treonina	275	268	317	250	212
Tryptofan	88	106	100	60	69
Walina	400	344	454	310	218
Suma aminokwasów egzogennych	2982	2714	3215	2250	1997

Wzorcowe białko (WHO/FAO/UNU 2007) dla osób dorosłych [mg/g białka]

Histydyna	15
Izo-leucyna	30
Leucyna	53
Lizyna	45
Metionina + Cysteina	22
Fenyloalanina + Tyrozyna	38
Treonina	23
Tryptofan	6
Walina	39

II. Strawność

określa stopień, w jakim dany produkt lub składnik odżywczy może zostać rozłożony do części składowych, nadających się do wchłonięcia do krwi lub limfy.

Możemy oceniać w racji pokarmowej lub w produkcji:

- współczynnik strawności **in vivo**
na ludziach i zwierzętach;
- badając stopień ich hydrolizy enzymatycznej
w warunkach laboratoryjnych **in vitro**

Współczynnik strawności

jest to procentowy stosunek strawionej i wchłoniętej ilości składnika odżywczego do ilości tego składnika spożytego z pokarmem, przy czym współczynnik ten może być pozorny lub rzeczywisty (gdzie uwzględnia się dietę bez tego składnika).

$$D_t = \frac{X_p - (X_k - X_{ko}) \times 100}{X_p}$$

X_p - białko spożyte z pokarmem;

X_k - białko wydalone z kałem

X_{ko} - ilość białka wydalonego z kałem na diecie bezbiałkowej

Współczynniki strawności - wybrane produkty

PRODUKT	Strawność białka	Strawność tłuszczu	Strawność sacharydów
Mleko	93,5	95,0	99,0
ziemniaki	78,0	97,5	96,0
Groch	70,0	30,0	92,5
Mąka żyt.	60,0	55,0	90,0
Jajo na twardo	96,0	95,0	---

Zalecane spożycie białka pełnowartościowego dla dorosłych

ok. 0,8 g/kg m. c./ dobę

Zalecane spożycie białka krajowej racji pokarmowej dla dorosłych

ok. 0,9 g/kg m. c./ dobę

ok. 1,2 g/kg m. c./ dobę - ciąża

ok. 1,45 g/kg m. c./ dobę - laktacja

Komitet Ekspertów FAO/WHO – 2007 r.

Człowiek traci śr. ok. 21 g białka dziennie

EAR (śr zapotrz. białko wzorcowe 100%

dla kobiet (45-80 kg) i **mężczyzn** (50-90 kg)

0,66 g/kg/ m.c. /dobę

RDA – zalecane spożycie - białko wzorcowe

dla kobiet (45-80 kg) i **mężczyzn** (50-90 kg)

0,80 g/kg/ m.c. /dobę (Jarosz, 2017)

Niedobór białka w żywieniu:

- ✓ **Niedożywienie**
 - ✓ (marasmus, kwashiorkor, mieszane)
- ✓ **zahamowanie wzrostu u dzieci,**
- ✓ **utrata masy ciała i masy mięśniowej,**
- ✓ **zmniejszenie wskaźników antropometrycznych,**
- ✓ **spadek odporności,**
- ✓ **owrzodzenia skóry**
- ✓ **obrzęki**
- ✓ **niedokrwistość.**

marasmus



kwashiorkor



Zbyt duże spożycie białka w diecie:

- ✓ Biegunki
- ✓ Kwasica (kwas moczowy, mocznik)
- ✓ Odwodnienie
- ✓ Gorączka
- ✓ Zwiększenie stęż. homocysteiny (miażdżyca)
- ✓ Wzrost wydalania wapnia z moczem
- ✓ Prowadzi do niepełnego przyswajania i utleniania aminokwasów obciążając wątrobę i nerki (może potęgować rozwój nefropatii cukrzycowej)
- ✓ przy nisko węglowodanowej oraz nisko tłuszczowej diecie - aminokwasy działają jak neuroprzekazniki, dają sygnał o braku węglowodanów i zostają uruchomione zapasy tłuszczowe

nadmiar metioniny głównie z białek
pochodzenia zwierzęcego

niedobór witaminy B6, B12
i kwasu foliowego

I _____ I

I

podwyższenie poziomu homocysteiny w surowicy

I

I

wzrost tiolaktonu homocysteiny

I

LDL

I

I

I

wzrost ilości kompleksów LDL-tiolakton homocysteiny

I

uszkodzenie śródbłonna naczyń tętniczych
oraz agregacja makrofagów i płytek

I

odkładanie się lipidów i cholesterolu w ścianie naczyń, wytwarzanie
nadtlenków, rozpłem komórek mięśni gładkich

Homocysteina

jest aminokwasem powstającym w organizmie człowieka z metioniny, będącej składnikiem białek pochodzenia zwierzęcego, dostarczanych z pożywieniem.

Przekształcana do cysteiny w reakcji enzymatycznej, w której kofaktorem jest witamina B₆.

W innej reakcji homocysteina ulega przekształceniu z powrotem do metioniny przy udziale witaminy B₁₂ i kwasu foliowego.

W przypadku zaburzeń lub nieprawidłowości metabolicznych w przemianach homocysteiny jej nadmiar gromadzi się we krwi. Wysokie stężenie homocysteiny stanowi nowy, ważny lecz wciąż niedoceniany czynnik ryzyka choroby wieńcowej, zawału serca i udaru mózgu.

Dieta niskobiałkowa

- 0,5 g/kg m.c. (20- 50 g/dobę)
(poniżej 10% energetyczności)
- Białko zwierzęce powinno stanowić min. 75%.
- Zastosowanie:
 - ✓ Nietolerancja białka (biegunka gnilna)
 - ✓ Ostra i przewlekła niewydolność nerek
 - ✓ Zapalenie kłębków nerkowych
 - ✓ Niewydolność wątroby
 - ✓ W chorobie Parkinsona może poprawić efekty działania Lewodopy

Dieta wysokobiałkowa

- Białko - 16- 20% energetyczności diety (100-120g /dobę).
- Celem jest dostarczenie białka o wysokiej wartości biologicznej do budowy i odbudowy komórek, tworzenia ciał odpornościowych, enzymów i hormonów.

Dieta wysokobiałkowa-zastosowanie

- ✓ Wyniszczenie organizmu (regeneracja ubytków masy beztłuszczowej)
- ✓ Rozległe oparzenia lub zranienia
- ✓ Choroby z długotrwałą gorączką
- ✓ Przewlekłe zapalenie trzustki
- ✓ Choroby miększu wątroby w okresie jej wydolności
- ✓ Cukrzyca
- ✓ Sportowcy (1,2 -1,4 – 3,0 g/ kg m.c./ dobę)

Oznaczanie zawartości białka w żywności

Met. Kjeldahla

Zmineralizowaną w stęż. H_2SO_4 próbę po hydrolizie, alkalizacji i destylacji ze stęż. NaOH określoną miareczkowaniem (HCl) zawartość azotu mnoży się przez odpow. przelicznik



Mnożnik białkowy

Zawartość białka w żywności

*oblicza się poprzez przelicznik wyrażający
średnią zawartość azotu w białku
(od 15% w mące pszennej do 17% w mleku
średnio 16% = $100/16$) czyli **6,25***

Oznaczanie zawartości białka w żywności

Spektroskopia w bliskiej podczerwieni (NIR)

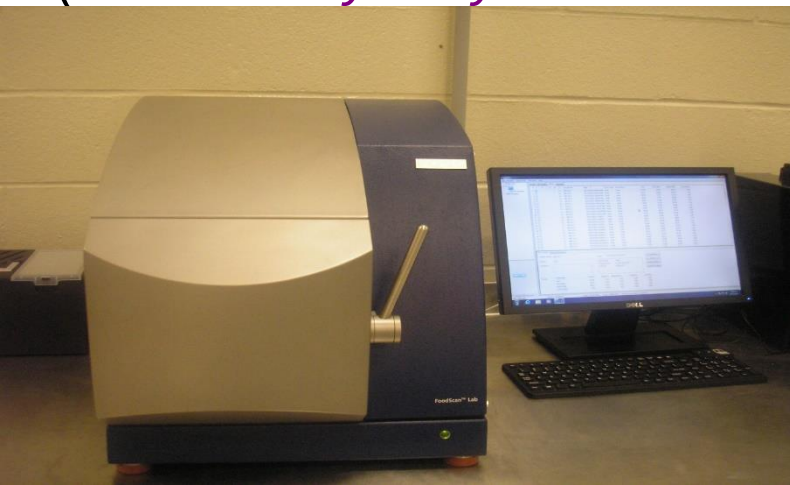
Spektroskopy pracujące w zakresie podczerwieni i bliskiej podczerwieni wykorzystują charakterystykę chemiczną badanej substancji.

Każdy typ wiązania chemicznego ma specyficzne miejsce w widmie promieniowania w zakresie podczerwieni.

Absorpcja takiego promieniowania powoduje wzbudzenie drgań wiązań chemicznych w związkach.

Drgania te modyfikują sygnał wyjściowy, przez co sygnał docierający do detektora niesie informacje o wszystkich związkach chemicznych w próbce.

(Analiza z wykorzystaniem modelu sztucznych sieci neuronowych)

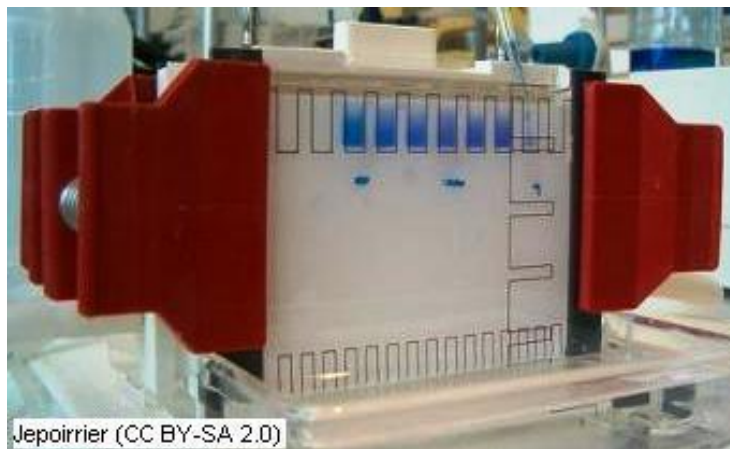


-Techniki elektroforetyczne

Pod wpływem przyłożonego pola elektrycznego dochodzi do przemieszczania się makrocząsteczek obdarzonych ładunkiem elektrycznym.

Prędkość przemieszczania się naładowanej elektrycznie makrocząsteczki zależy od jej ładunku, rozmiaru, kształtu oraz oporów ruchu środowiska.

Wykorzystując elektroforezę możliwe jest szybkie separowanie makrocząsteczek takich jak: kwasy nukleinowe (DNA, RNA) czy białka.



Jepoirrier (CC BY-SA 2.0)

Techniki immunochemiczne (ELISA)

Do oceny jakości surowców i prod. spożywczych, np.

- pszenica (gluten, ω -gliadyny),

- przemysł koncentratów spożywczych – białka roślinne: soja, groch (stopień przetworzenia, właściwości funkcjonalne)

- przemysł mleczarski: mleko i jego przetwory – białka w serowarstwie (zakres obróbki cieplnej, produkty degradacji białek)

- przemysł mięsny: analiza białek modyfikowanych i hormonów (znaczniki jakości mięsa)

METODY OCENY WARTOŚCI ODŻYWCZEJ BIAŁKA

A/ Metody chemiczne :

- chemiczny miernik jakości białka CS (*chemical score*);

B/ Metody biologiczne - *na żywym ustroju*:

- wydajność wzrostowa białka PER (*Protein Efficiency Ratio*);
- wartość biologiczna białka (WBB) - BV (*Biological Value*);
- wykorzystanie białka netto (WBN) - NPU (*Net Protein Utilisation*);

Metody chemiczne

- analityczne oznaczenie składu aminokwasowego danego białka posiłku lub całodiennej diety (po uprzedniej hydrolizie)

lub określenie ilości poszczególnych aminokwasów przy pomocy tabel

Chemiczna metoda oceny jakości białka –
porównanie składu aminokwasowego badanego białka ze składem białka wzorcowego

Wykorzystuje się pojęcie **aminokwasu ograniczającego**, tj. *aminokwasu egzogenego, który w danym białku lub posiłku występuje w najmniejszej ilości w porównaniu z wzorcem.*

Metody chemiczne - wartość odżywcza

SC – chemiczny miernik jakości białka **(Chemical Score)**

$$CS = \frac{a_o}{a_{ow}} \times 100$$

gdzie:

a_o – zawartość aminokwasu ograniczającego w danym białku

a_{ow} – zawartość tego samego aminokwasu w białku wzorcowym w mg / 1 g azotu

Metody biologiczne

stosowane w ocenie wartości odżywczej białka zakładają wykorzystanie do badań żywego ustroju.

Najbardziej miarodajną metodą byłoby przeprowadzenie jej na człowieku
(np. przez badanie bilansu azotowego przy różnym spożyciu białka),

to jednak ze względów praktycznych do tego celu zwykle używa się zwierząt laboratoryjnych, najczęściej młodych, rosnących szczurów.

Metody biologiczne - wartość odżywcza

Wydajność wzrostowa białka - PER

przyrost masy ciała (g)

spożycie białka (g)

Określa przyrost masy ciała na 1 g spożytego białka, przy karmieniu 21-30-dniowych szczurów przez 6 tygodni testową dietą o zawartości białka 10-12% (tj. poniżej wielkości zapotrzebowania na wzrost)

Biologiczna wartość białka - oprac. przez Thomasa w 1909r.

i zmodyfikowana przez Mitchella w 1924r.

BV - określa tę część wchłoniętego azotu (białka),
która została zatrzymana w ustroju w celu pokrycia
potrzeb endogennej przemiany azotu do utrzymania
zrównoważonego bilansu azotowego lub do pokrycia
potrzeb syntezy białka w okresie wzrostu.

*Ocenia się ją na podstawie bilansu azotowego, uwzględniając
poprawki na ilość azotu wydalonego z kałem i moczem w
okresie karmienia dietą bezbiałkową*

$$\text{BV} = \frac{\text{N}_{\text{spoż.}} - [(\text{Nk} - \text{Nko}) - (\text{Nm} - \text{Nmo})]}{\text{N}_{\text{spoż.}} - (\text{Nk} - \text{Nko})} \times 100\%$$

NPU — ocena stopnia wykorzystania białka netto (Net Protein Utilization)

Określa ilość azotu zatrzymanego w ustroju
młodych 21-30-dniowych szczurów.

Wyraża się ją jako różnicę między ilością azotu
oznaczoną w tuszkach zwierząt karmionych przez 10 dni
dietą z badanym białkiem a ilością azotu w tuszkach
szczurów otrzymujących przez ten sam czas dietę
bezbiałkową, w odniesieniu do ilości azotu spożytego:

Wykorzystanie białka netto

$$NPU = \frac{(N_b - N_{b0})}{N \text{ spoż.}} \times 100\%$$

N_b – ilość azotu oznaczona w tuszkach zwierząt w okresie karmienia dietą badaną

N_{b0} - ilość azotu oznaczona w tuszkach zwierząt w okresie karmienia dietą bezbiałkową

$N \text{ spoż.}$ – ilość azotu spożytego

1. Białka pochodzenia zwierzęcego: mleka i produktów mlecznych, mięsa i jego przetworów, jaj

należą do białek **o dużej wartości odżywczej**

NPU = 70 – 85%, przy czym aminokwasami ograniczającym są w ich przypadku aminokwasy siarkowe



2. Białka roślinne mają **mniejszą wartość odżywczą**

NPU = 50 – 65%, a ich wartość ograniczają lizyna, tryptofan, metionina



Zawartość białek ustrojowych

(w surowicy, tkankach)

- **reakcja biuretowa**

W roztworze zasadowym białka redukują jony miedzi. Uwidacznia się to poprzez niebieską barwę roztworu. Reakcję tą przeprowadza się najczęściej w obecności glikolu polietylenowego.

Niska czułość

- *modyfikacją tej metody jest micro-biuret assay*

- **Metoda Lowry'ego**

Modyfikacja metody biuretowej. Tworzą się kompleksy miedziowo-białkowe. Jony miedziowe są następnie redukowane reagentem Folin-Ciocalteu, powodując powstanie intensywnej niebieskiej barwy.

*W porównaniu z metoda biuretową ta jest dużo **bardziej czuła** oraz powoduje zużycie znacznie mniejszej ilości próbki.*



Metody oceny zapotrzebowania na białko

W celu opracowania **norm żywienia** zapotrzebowanie na białko wyznacza się metodami:

- metoda bilansowa

pozwała określić minimalne zapotrzebowanie na białko do utrzymania równowagi azotowej dorosłych oraz zapewnienia rozwoju dzieci i młodzieży

Bilans azotowy kilku – kilkunastu dni

$$\mathbf{Bn = Np - (Nk + Nm + Ns)}$$

Np – azot zawarty w pokarmach

Nk – azot zawarty w kale

Nm – azot zawarty w moczu

Ns – azot wydzielany przez skórę (w pocie)

Metody oceny zapotrzebowania na białko c.d.

-metoda czynnikowa

Określenie ilości wydalanego azotu endogennego przez osoby pozostające na diecie bezbiałkowej z założeniem, że dla uzyskania równowagi azotowej ilość przyjmowanego przez te osoby białka powinna równoważyć straty azotu z kałem, moczem i potem.

Minimalne zapotrzebowanie na białko:

$$B_0 = (N_k + N_m + N_p) \times 6,25 \times 100 / PDCAAS$$

N_k – azot zawarty w kale

N_m – azot zawarty w moczu

N_p – azot zawarty w pocie

PDCAAS – wskaźnik aminokwasu ograniczającego skorygowany o strawność białka