УДК 664.38

CALCULATING METHODS OF FAO/WHO FOR THE ESTIMATION OF QUALITY OF DIETARY PROTEIN

V. Makhynko, L. Makhynko
National University of Food Technologies

Key words:
Amino acids
The reference protein
Biological value
Digestibility
Calculation
DIAAS
PDCAAS

Article history:
Received 15.07.2020
Received in revised form 29.07.2020
Accepted 13.08.2020

Corresponding author:
V. Makhynko
E-mail:
mavam78@gmail.com

ABSTRACT

Consuming a sufficient amount of protein is an important parameter of a balanced human diet. However, the quality of the consumed protein determined by content of essential amino acids should also be taken into account. Clinical studies to determine the quality of protein take a lot of time and require significant financial costs and resources. A much more promising way is to estimate biological value of protein by comparing its amino acid formula with amino acid content in the reference (perfect) protein.

The purpose of the work was to compare the results obtained by classic and modern methods of calculating the quality of dietary protein. The article provides examples of the calculation and the results of calculating the quality of protein contained in the mixture of wheat and corn flour. The obtained results confirmed that the application of the calculation method most commonly used today for evaluating the quality of food protein is the amino acid score calculation (which does not consider the overall protein digestibility and the bioavailability of certain essential amino acids)/ It leads to significant overestimate of forecast biological value of food products and diets. The introduction of the adjustment for digestibility according to the PDCAAS method has led to 6% decrease of the studied parameter compared to the results obtained by the classic method. And the biological value of the protein in the mixture under study calculated by the DIAAS method was less than the amino acid score determined by the classic method by 8%, and less than the PDCAAS value by 2%. The bioavailability of certain amino acids has also decreased by 18…19%. The PDCAAS and DIAAS methods are known to ensure the results close to that of biomedical studies, so it is necessary to use them as wide as possible to improve the existing food products and diets or to develop new ones.

DOI: 10.24263/2225-2924-2020-26-4-19

РОЗРАХУНКОВІ МЕТОДИКИ ФАО/ВООЗ ДЛЯ ОЦІНЮВАННЯ ЯКОСТІ ХАРЧОВОГО БІЛКА

В. М. Махинько, Л. В. Махинько
Національний університет харчових технологій

Якість спожитого білка визначається вмістом незамінних амінокислот, тому перспективним є розрахункове оцінювання біологічної цінності білка шляхом зіставлення його амінокислотної формули з вмістом амінокислот в еталонному (ідеальному) білку.

У статті проведено порівняння результатів, одержаних класичною та сучасними методиками розрахунку якості харчового білка. Наведено приклади розрахунку та результати обчислення якості білка, що міститься в суміші пшеничного та кукурудзяного борошна. Використовується класична методика розрахунку амінокислотного числа, а також найсучасніші методики PDCAAS (protein digestibility corrected amino acid score) та DIAAS (digestible indispensable amino acid score), які враховують рівень засвоюваності білка та ступінь біодоступності амінокислот.

Одержані результати свідчать, що використання найпоширенішої на сьогодні розрахункової методики оцінювання якості харчового білка — обчислення амінокислотного числа (без урахування величин загальної засвоюваності білка та біодоступності окремих незамінних амінокислот) призводить до суттєвого перевищення прогнозованої величини біологічної цінності продуктів і раціонів. Внесення поправки на засвоюваність за методикою PDCAAS призвело до зниження досліджуваного показника порівняно з результатами, отриманими за класичною методикою, на 6%. Розрахунковий показник біологічної цінності білка досліджуваної суміші, визначений за методикою DIAAS, на 8% менший за показник амінокислотного числа (класична методика) і на 2% — за показник PDCAAS. Також спостерігається зниження величини біодоступності окремих амінокислот на 18…19%. Оскільки відомо, що методики PDCAAS і DIAAS забезпечують одержання результатів, близьких до медико-біологічних досліджень, слід прагнути до якомога ширшого їх використання для удосконалення існуючих чи розроблення нових харчових продуктів і раціонів.

Ключові слова: *амінокислоти, еталонний білок, біологічна цінність, засвоюваність, розрахунок, DIAAS, PDCAAS.*

Постановка проблеми. Білок є невід'ємною складовою повноцінного харчування людини. Тривале недостатнє споживання білка може стати причиною хронічних захворювань, адже більшість біологічно активних складових нашого організму мають білкову природу (гормони, ферменти, антитіла тощо). Подібні негативні зміни можуть бути викликані й ситуацією, коли кількість спожитого білка є достатньою, але організм людини відчуває наслідки білкової недостатності, зумовлені низькою якістю харчового білка (низький або незбалансований вміст незамінних амінокислот, знижена засвоюваність білка). Саме тому більшість країн в обов'язковому порядку розробляють і законодавчо закріплюють

норми споживання білка. На міжнародному рівні цією роботою займається Комітет експертів ФАО/ВООЗ. Зазвичай, кожні десять років вони збираються на чергове засідання, щоб переглянути уявлення щодо норм споживання білка та його якості на основі останніх наукових даних.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Уперше питаннями виключно білкової складової харчування людини займалася група експертів ФАО, скликана ще 1957 року. Тоді прийняли рішення, що жоден з природних продуктів не може бути прийнятий за еталонне джерело білка, тому було розроблено формулу еталонного білка, яка переглядалася кілька разів. Останній варіант формули запропоновано у 2011 р. [1]. На засіданні Спеціального об'єднаного комітету експертів ФАО/ВООЗ у 1971 р. запропоновано оцінювати якість білка, порівнюючи його амінокислотний склад з вмістом відповідних амінокислот в еталонному білку — розраховувати амінокислотне число (амінокислотний скор) [2]. Ця методика набула широкої популярності й до сьогодні використовується у деяких непрофільних наукових дослідженнях. Однак новітні медико-біологічні дослідження показали недосконаліть подібних розрахунків, оскільки було встановлено факт впливу на біологічну цінність білка як його загальної засвоюваності, так і біодоступності окремих амінокислот. Тому вже на Консультативних зборах експертів ФАО/ВООЗ у 1989 р. запропоновано уточнену методику оцінювання якості харчового білка з урахуванням його засвоюваності (PDCAAS — protein digestibility corrected amino acid score) [3]. Розвиток новітніх методів досліджень (насамперед використання стабільних ізотопів і капілярного електрофорезу) дав змогу встановити нові дані щодо засвоюваності не лише в загальному білка, але й кожної з амінокислот, що входять до його складу. Тому учасники Консультативної наради ФАО, що зібралися в 2011 р., запропонували оновлену методику визначення біологічної цінності білка — DIAAS (digestible indispensable amino acid score). Згідно з цією методикою, оцінювання якості харчового білка повинно проводитися шляхом порівняння з амінокислотною формулою еталонного білка лише біологічно засвоюваної кількості спожитих з харчовим білком амінокислот [1].

Метою дослідження є порівняння результатів розрахункового оцінювання якості харчового білка за трьома методиками (розрахунок амінокислотного числа, показників PDCAAS і DIAAS).

Матеріали і методи. Об'єктом розрахунків обрано суміш борошна пшеничного та борошна кукурудзяного у співвідношенні 90:10, що використовується в хлібопекарському виробництві. Як еталонний білок використовували формулу, запропоновану на останньому засіданні Консультативних зборів експертів ФАО у 2011 р. [1]. Дані про вміст незамінних амінокислот в еталонному білку та обраному борошні наведено у табл. 1.

Таблиця 1. **Вміст незамінних амінокислот у досліджуваній сировині**

Амінокислота	Вміст амінокислоти, мг/г білка		
	Еталонний білок	Борошно пшеничне [4]	Борошно кукурудзяне [4]
1	2	3	4
Валін	40	49,2	48,0
Гістидин	16	22,8	27,3
Ізолейцин	30	42,2	36,8

Продовження таблиці 1

1	2	3	4
Лейцин	61	75,5	126,3
Лізин	48	24,6	27,3
Метіонін+цистин	23	33,6	35,3
Треонін	25	28,1	36,8
Триптофан	6,6	11,5	6,4
Фенілаланін+тирозин	41	75,5	89,6

Оскільки всіма методиками допускається проводити спрощений розрахунок лише для п'яти найдефіцитніших амінокислот (лізин, метіонін, цистин, треонін і триптофан), використовували саме таку спрощену форму розрахунку. Для зручності розуміння ходу обчислень дані зводили в таблицю, зазначаючи послідовність операцій за допомогою літерної індексації стовпчиків. Форму розрахункової таблиці та спосіб її заповнення прийняли згідно з рекомендаціями [1].

Результати і обговорення. На першому етапі проводили розрахунок амінокислотного числа досліджуваної суміші за класичною методикою 1971 р. [2]. Для цього обчислювали загальний вміст амінокислот у суміші та в перерахунку на 1 г білка суміші й порівнювали одержані дані з амінокислотною формулою еталонного білка. Значення амінокислотного числа виражали у відсотках, перемноживши результат розрахунків на 100 (табл. 2).

Таблиця 2. **Розрахунок амінокислотного числа (скору) білка досліджуваної суміші**

Компонент	Кількість компоненту в суміші, г	Масова частка білка, %	Вміст амінокислот, мг/1 г білка				Кількість білка в суміші, г	Вміст амінокислот у суміші, мг			
			Lys	Met+Cys	Thr	Trp		Lys	Met+Cys	Thr	Trp
	А	Б	В	Г	Д	Е	Ж=А×Б/100	Ж×В	Ж×Г	Ж×Д	Ж×Е
Борошно пшеничне	900	9,6	24,6	33,6	28,1	11,5	86	2125	2903	2428	994
Борошно кукурудзяне	100	8	27,3	35,3	36,8	6,4	8	218	282	294	51
Разом:							94	2344	3185	2722	1045
Вміст амінокислот у суміші, мг/1 г білка:								25	34	29	11
Вміст амінокислоти в еталонному білку, мг/1 г білка:								48	23	25	6,6
Амінокислотне число і лімітуюча амінокислота:								52	147	115	168
* Thr – треонін, Val – валін, Ile – ізолейцин, Leu – лейцин, Tyr – тирозин, Phe – фенілаланін, His – гістидин, Lys – лізин, Cys – цистин, Met – метіонін, Trp – триптофан											

Зважаючи на початкові дані, наведені у табл. 1, лімітуючою амінокислотою суміші виявився лізин, амінокислотне число якого становить 52%. Скори інших амінокислот не лише близькі до 100%, але й на 15…68% перевищують нормований показник. Однак відомо, що у випадку з незамінними амінокислотами надлишок одних не може компенсувати недостатність інших (закон Лібіха). У більшості випадків ці надлишкові амінокислоти будуть використані на енергетичні цілі чи виведені з організму — обидва варіанти є недоцільними і замість позитивного фізіологічного ефекту можуть, навпаки, підвищувати навантаження на видільну систему людини. Тому вже на цьому етапі розрахунків

можна стверджувати, що суміш є біологічно неповноцінною і потребує коригування свого хімічного складу шляхом внесення інших видів сировини з високим вмістом лізину чи збагаченням чистим препаратом цієї амінокислоти.

Розрахункова методика PDCAAS вперше була запропонована у 1989 р., однак її широке застосування виявило кілька суперечностей, для подолання яких протягом наступних років було внесено декілька змін. Остаточна редакція правил обчислення показника PDCAAS та рекомендована форма для цього були затверджені у 2002 р. на Консультативних зборах експертів ФАО/ВООЗ/УООН [5]. Згідно з рекомендаціями цих зборів, аби наблизити дані, одержані розрахунковим шляхом, до результатів медико-біологічних досліджень, слід вводити поправку на загальну засвоюваність білка. Також, оскільки науковцями вже проводиться визначення засвоюваності окремих амінокислот та їхнього впливу на біологічну цінність білка [6], методика PDCAAS передбачає введення поправки на засвоюваність двічі: на етапі розрахунку кількості засвоюваних амінокислот і на етапі обчислення підсумкового показника PDCAAS. Приклад розрахунку біологічної цінності досліджуваної суміші за показником PDCAAS наведено у табл. 3 (дані про засвоюваність білка взято з [1]).

Таблиця 3. **Форма і результати оцінювання білка досліджуваної суміші за показником PDCAAS**

Компонент	Кількість компоненту в суміші, г	Масова частка білка, %	Вміст амінокислот, мг/1 г білка				Засвоюваність, %	Кількість білка, г		Засвоювана кількість амінокислот, мг			
			Lys	Met+Cys	Thr	Trp		Загальна	Засвоювана	Lys	Met+Cys	Thr	Trp
	А	Б	В	Г	Д	Е	Є	Ж=А×Б/100	К=Ж×Є/100	К×В	К×Г	К×Д	К×Е
Борошно пшеничне	900	9,6	24,6	33,6	28,1	11,5	89	86	77	1892	2584	2161	884
Борошно кукурудзяне	100	8	27,3	35,3	36,8	6,4	96	8	7,7	210	271	283	49
Разом:								94	85	2101	2855	2443	933
Середня величина засвоюваності (засвоювана кількість білка/загальну кількість білка), %:							90						
Вміст засвоюваних амінокислот у суміші, мг/1 г засвоюваного білка:										25	34	29	11
Вміст амінокислоти в еталонному білку, мг/1 г білка:										48	23	25	6,6
Амінокислотне число і лімітуюча амінокислота:										0,52	1,47	1,16	1,67
Показник PDCAAS суміші (амінокислотне число лімітуючої амінокислоти×середню величину засвоюваності), %										46			

Хоча обрана сировина має досить високий ступінь засвоюваності (середня величина засвоюваності становить майже 90%), однак зниження засвоюваності закономірно вплинуло на результуюче значення. Як бачимо, внесення поправки на засвоюваність призвело до зниження показника PDCAAS порівняно з показником амінокислотного числа, розрахованого за попередньою методикою, на 6%. Слід відмітити, що це зниження проявилося лише на завершальному етапі, коли було внесено другу поправку на засвоюваність: якщо порівняти розраховані значення амінокислотного числа за обома методиками, вони практично не відрізняються. Однак, як зазначалося, дані біологічної цінності харчового білка, одержані за методикою PDCAAS, значно ближчі до

результатів медико-біологічних досліджень, тому слід прагнути до якомога ширшого впровадження описаної методики у широке використання всіма фахівцями, що займаються питаннями удосконалення існуючих чи розроблення нових харчових раціонів.

Методика DIAAS на сьогодні вважається найбільш придатною для розрахункового оцінювання якості харчового білка. Вона є удосконаленням методики PDCAAS, однак використовує не загальну величину засвоюваності білка, а рівень біологічної доступності окремих амінокислот, що входять до його складу [1]. Масив цих даних зростає щороку і на сьогодні існують вже досить повні таблиці засвоюваності окремих амінокислот для найбільш поширених видів харчової сировини та готової продукції [7]. Оскільки метод забезпечував отримання значень біологічної цінності, дуже близьких до результатів клінічних досліджень (на основі вивчення азотного балансу), він був відразу ж прийнятий науковою спільнотою [8; 9]. Як і в разі з методикою PDCAAS, експерти ФАО рекомендують проводити повний розрахунок (з урахуванням вмісту та засвоюваності всіх незамінних амінокислот). Однак допускається, для полегшення і прискорення подібних обчислень чи при відсутності результатів медико-біологічних досліджень щодо певних амінокислот, проводити розрахунок лише для п'яти найдефіцитніших амінокислот (лізин, метіонін, цистин, треонін і триптофан). Результати обчислень спрощеного показника DIAAS досліджуваної суміші наведено у табл. 4.

Таблиця 4. **Форма і результати оцінювання білка досліджуваної суміші за показником DIAAS**

Компонент	Кількість компоненту в суміші, г	Масова частка білка, %	Вміст амінокислот, мг/1 г білка				Істинна засвоюваність амінокислот, %				Кількість білка в суміші, г	Засвоювана кількість амінокислот, мг			
			Lys	Met+Cys	Thr	Trp	Lys	Met+Cys	Thr	Trp		Lys	Me+Cys	Thr	Trp
	А	Б	В	Г	Д	Е	Ж	К	Л	М	Н	Ж×В	К×Г	Л×Д	М×Е
Борошно пшеничне	900	9,6	24,6	33,6	28,1	11,5	87	88	86	89	86,4	1849	2555	2088	884
Борошно кукурудзяне	100	8	27,3	35,3	36,8	6,4	76	86	76	78	8	166	243	224	40
Разом:											94,4	2015	2798	2312	924
Вміст засвоюваних амінокислот у суміші, мг/1 г білка:												21	30	24	10
Вміст амінокислоти в еталонному білку, мг/1 г білка:												48	23	25	6,6
Показник DIAAS суміші, обумовлений лімітуючою амінокислотою, %:												44	129	98	148

Порівнюючи одержані дані з результатами попередніх досліджень, бачимо ще суттєвіше зниження показника біологічної цінності білка: відносно показника амінокислотного числа, розрахованого за методикою 1971 р., — на 8%, відносно показника PDCAAS — на 2%. Також спостерігаємо зниження величини амінокислотного скору для інших амінокислот на 18…19%, зокрема для треоніну він зменшився нижче граничного показника 100%. Зважаючи на незначне розходження показників DIAAS та PDCAAS, обидві методики можуть

бути використані для вибору сировини чи удосконалення рецептур виробів підвищеної біологічної цінності.

Висновки

Отже, використання найпоширенішої на сьогодні розрахункової методики оцінювання якості харчового білка — обчислення амінокислотного скору (без урахування величин засвоюваності білка та амінокислот) призводить до суттєвого перевищення прогнозованої величини біологічної цінності продуктів і раціонів. Постійний розвиток інструментарію для медико-біологічних досліджень забезпечив накопичення значної бази даних щодо показників біологічної доступності як білка загалом, так і окремих амінокислот, що входять до його складу. Тому фахівцям харчової галузі слід ширше використовувати новітні методики PDCAAS та DIAAS для розрахункового оцінювання якості білка. Значення PDCAAS (за наявності всіх необхідних даних — DIAAS) значно ближчі до результатів клінічних досліджень, які враховують усю різноманітність трансформації спожитого білка та амінокислот в організмі людини.

Література

1. Dietary protein quality evaluation in human nutrition: report of an FAO Expert Consultation. Rome: FAO, 2013. 66 p. Також доступний у PDF: http://www.fao.org/3/a-i3124e.pdf (дата звернення 09.04.2020).

2. Energy and protein requirements: report of a Joint FAO/WHO ad hoc expert committee. Geneva, WHO Tech. Rep. 522, 1973. 118 p. Також доступний у PDF: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/41042/WHO_TRS_522_eng.pdf (дата звернення 09.04.2020).

3. Protein quality evaluation: report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation. Rome: FAO, 1991. 66 p.

4. Frida Food Data (http://frida.fooddata.dk), version 1, release 3.7 2019-04-02, National Food Institute, Technical University of Denmark.

5. Protein and amino acid requirements in human nutrition, Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Geneva, WHO Tech. Rep. 935, 2007. 265 p. Також доступний у PDF: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43411/1/WHO_TRS_935_eng.pdf (дата звернення 09.04.2020).

6. Schaafsma G. "Advantages and limitations of the protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) as a method for evaluating protein quality in human diets" // British Journal of Nutrition, 2012. Vol. 108 (S2). pp. 333—336. DOI: 10.1017/S0007114512002541. Також доступний у PDF: https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/B8AF22E072A9236C87E03EF2960EF5EE/S0007114512002541a.pdf/div-class-title-advantages-and-limitations-of-the-protein-digestibility-corrected-amino-acid-score-pdcaas-as-a-method-for-evaluating-protein-quality-in-human-diets-div.pdf (дата звернення 09.04.2020).

7. The assessment of amino acid digestibility in foods for humans and including a collation of published ileal amino acid digestibility data for human foods / Report of a Sub-Committee of the 2011 FAO Consultation on "Protein Quality Evaluation in Human Nutrition", 2012. 58 p. Також доступний у PDF: http://www.fao.org/ag/humannutrition/36216-04a2f02ec02eafd4f457dd2c9851b4c45.pdf (дата звернення 09.04.2020).

8. Rutherfurd S. Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores and Digestible Indispensable Amino Acid Scores Differentially Describe Protein Quality in Growing Male Rats / S. Rutherfurd, A. Fanning, B. Miller, P. Moughan // The Journal of Nutrition, 2015. Vol. 145. pp. 372—379. DOI: 10.3945/jn.114.195438.

9. Havenaar R. Herring roe protein has a high digestible indispensable amino acid score (DIAAS) using a dynamic in vitro gastrointestinal model / R. Havenaar, A. Maathuis, A. de Jong, D. Mancinelli, A. Berger, S. Bellmann. *Nutrition Research*. 2016. Vol. 36(8). pp. 798—807. DOI: 10.1016/j.nutres.2016.05.004.