

# Съвременен преглед и актуални препоръки към аналитичните методи за определяне на макронутриенти в храни

Гл. ас. инж. хим. Десислава Гюрова

Сектор „Органичен анализ“, Национален център по общественото здраве и анализи

## Резюме

Въпреки усилията през последните петдесет години, все още е налице остра нужда от международни хармонизирани методи и данни за макронутриенти в храните. Развитието на нови методи за анализ на специфичните компоненти, носители на енергия, увеличи сложността и направи тази потребност по-голяма от всякога.

На практика съществуват много принципни различия в методите, като днес ние обозначаваме по-съвършените и точни методи като „**прегпочитани**“, а традиционните методи са по-достъпни, приложими и в много случаи – приемани в националните нормативни уредби.

**Прегпочитаните** методи са безусловно по-обективни, но не винаги могат да бъдат използвани. Налага се да продължаваме да приемаме резултатите от методи, които са по-достъпни за текущата практика.

**Ключови думи:** храни, макронутриенти, аналитични методи.

## A contemporary review and current recommendations to analytical methods for determination of food macronutrients

Assist. Prof. Desislava Gyurova

Department "Organic analysis", National Center of Public Health and Analysis

## Abstract

Despite efforts over the past fifty years, there is still a great need for international harmonized methods and data for macronutrients in foods. The developments of new methods for analysis of specific components, energy carriers, increase a complexity and make this need more than ever.

In practice, there are many fundamental differences in the methods, and today we are indicating the more sophisticated and accurate methods such as „**preferred**“, and the traditional methods are more an accessible and an applicable in many cases – adopted in the national regulations.

Preferred methods are unconditionally more objective, but can not always be used. We need to continue to accept the results of methods, which are more an accessible to current practice.

**Key words:** foods, macronutrients, analytical methods.

Настоящата работа представя най-често използваните аналитични методи за белтък, мазнини и въглехидрати и прави препоръки по отношение на **предпочитаните** методи с оглед съвременното състояние на техниката и наличните лабораторни технологии.

## Аналитични методи за протеини в храна

### Текущо състояние на проблема

В продължение на много години съдържанието на протеина в храните е било определяно на базата на съдържанието на общ белтък, докато методът на Келдал (или подобен метод)<sup>1</sup> е бил използван почти във всички случаи за определяне съдържанието на азот. За да се получи белтъчното съдържание, азотното съдържание е било умножавано по фактор. Този случай се базира на две допускания: че хранителните въглехидрати и мазнините не съдържат азот и че почти всички азот в храната присъства като аминокиселини в белтъците. На основата на по-отдавнашни определяния средното съдържание на азот (N) в белтъците възлиза на около 16%, което води до използване на изчислението  $N \times 6.25$  ( $1/0.16 = 6.25$ ) за превръщане на азота в белтъчно съдържание.

Тази употреба на единичния фактор 6.25 води до неточности поради два фактора. Първо, не всички азот в храните се открива в белтъците. Той също така се съдържа в различни количества в други съединения, такива като свободни аминокиселини, нуклеотиди, креатин и холин, затова той се причислява към т. нар. небелтъчен азот (NPN). Само малка част от (NPN) е на разположение за синтез на неесенциални аминокиселини. Второ, съдържанието на азот в специфични аминокиселини (като % от масата) варира според молекулното тегло на аминокиселините и броя на азотните атоми, които съдържат (от един до четири). Базирайки се на тези факти и на различния състав на аминокиселините на различните белтъци, съдържанието на азот в белтъците действително варира от 13 до 19%. Последното кореспондира с използването на фактори за превръщане на азота в интервал от 5.26 ( $1/0.19$ ) до 7.69 ( $1/0.13$ ).

В отговор на тези допускания, Jones през 1941 г.<sup>8</sup> предлага  $N \times 6.25$  да бъде изоставен и заменен от  $N \times$  фактор, специфичен за дадената храна. Тези специфични фактори, известни днес като „Факторите на Jones“, са широко прилагани. „Факторите на Jones“ за най-често консумираните храна са в обхвата от 5.18 (орехи, семена) до 6.38 за (мляко).

Оказва се обаче, че повечето храна с високо съотношение на азот като небелтъчен азот

съдържат относително малки количества от всички азот.<sup>10, 11</sup>

Понеже белтъците се състоят от вериги аминокиселини, свързани помежду си чрез пептидни връзки, те могат да се хидролизират до собствените си аминокиселини, като последните се определят чрез йоннообменна, газовотечна или течна хроматография. Сумата от аминокиселините тогава представлява белтъчното съдържание (от масата) в храната и се счита като „истински белтък“.

### Препоръки

1. Препоръчва се протеинът в храните да се определя като сума от индивидуалните аминокиселини остатъци (молекулното тегло на всяка аминокиселина **минус** молекулното тегло на водата) **плюс** свободните аминокиселини, когато е възможно.

2. Тази препоръка е направена на базата на твърдението, че все още няма официален метод на AOAC (Association of Official Analytical Chemists) за определяне на аминокиселини в храна.

3. Съгласно предходната препоръка Таблиците за химичен състав на храните следва да отразяват протеина като сума от аминокиселини, когато това е възможно.

4. Когато не разполагаме с данни за аминокиселините, определянето на белтък се базира на общото азотно съдържание (N) по Келдал<sup>1</sup> или подобен метод, умножен по фактора, който се счита за премиливи.

5. Специфичните фактори на Jones за съдържание на азот в храна, които се анализират, следва да бъдат използвани за превръщането на азота в белтък, когато специфичният фактор е известен. Когато последният не е известен, следва да бъде използван  $N$  по **6.25**.

6. Препоръчва се за определяне на протеина да бъдат използвани единствено анализи на аминокиселини в следните случаи:

- За храна, използвани като основен източник на препитание, такива като „храна за кърмачета“.
- За храна/рецепти със специално предназначение.
- За нови храна.

## Аналитични методи за мазнини в храна

### Текущо състояние на проблема

В сравнение с протеина и въглехидратите е налице може би повече „съгласие“ между изследователите относно стандартизираните методи за анализ на мазнини. Повечето от мазнините в храните са под формата на триглицериди (естери на

холестерола с три мастни киселини). Съществуват преди всичко неглицеридни компоненти, такива като стероли, напр. холестерол. Докато се счита все още, че тези неглицеридни компоненти изграят роля в метаболизма, сами по себе си те се явяват маловажен източник на енергия в храната.<sup>5</sup> Съществуват приети АОАС гравиметрични методи за сурова мазнина, които включват фосфолипиди и восъчни естери, както и минимални количества немаслен материал.<sup>1</sup> Общата мазнина може да бъде изразена като триглицеридни еквиваленти, определени като сума от отделните мастни киселини и изразени като триглицериди.<sup>5</sup> Този метод е показал задоволителни резултати за стойностите на мазнини в широк спектър храни.

### Препоръки

1. За енергийни цели се препоръчва мазнините да се анализират като мастни киселини и да се изразяват като триглицеридни еквиваленти, като този подход изключва восъци и фосфолипиди, които не могат да се използват като източник на енергия.<sup>7</sup>

2. Гравиметричният метод, въпреки че е по-малко желан, е приемлив за целите на оценката на енергията.<sup>1</sup>

## Аналитични методи за Въглехидрати в храни

### Текущо състояние на проблема

В специален доклад от среща на експерти на FAO/WHO<sup>6</sup> са представени подробно описание на различните видове въглехидрати и преглед на използваните методи за анализ, които са обобщени концептуално в следващите параграфи. Други препоръки от консултациите през 1997 г., напр. по отношение на номенклатурата на въглехидратите, са разглеждани от тогавашен технически семинар.

В продължение на много години общото въглеродното съдържание в храни е било изчислявано по разлика, вместо да бъде анализирано директно. При този подход другите съставки в храната (протеини, мазнини, влага, алкохол, пепел) се определят индивидуално, сумарно и се изваждат от общата маса на продукта. Последното твърдение се разглежда като „тотални въглехидрати по разлика“ и се изчислява по следната формула:

● **по разлика:** 100 – масата в г на сумата от белтък, мазнини, влага, пепел и алкохол в 100 г продукт.

Трябва да е ясно, че оценката на въглехидратите по този начин включва хранителните влакнини, както и някои компоненти, които не са строго погледнато въглехидрати, например органичните киселини.<sup>11</sup>

Тоталните въглехидрати могат също да бъдат изчислени от сумата от масата на индивидуалните въглехидрати и влакнини, след като всеки от тях се анализира директно:

● **чрез директни анализи:** масата в грамовете на сумата от моно-, ди-, олигозахариди и полизахариди, включваща и влакнините.

**Наличните въглехидрати** представляват тази фракция от въглехидратите, която може да бъде обработена от човешките ензими, която се абсорбира и влиза в междинния метаболизъм (тук не се включват хранителните влакнини, които са източник на енергия след ферментация).

**Наличните въглехидрати** могат да бъдат определени по два различни начина: могат да бъдат изчислени по разлика или анализирани директно. За изчислението им по разлика трябва да бъде анализирано и извадено от тоталните въглехидрати количеството на хранителните влакнини:

● **по разлика:** 100 – масата в г на сумата от белтък, мазнини, влага, пепел, алкохол и влакнини в 100 г продукт,

или:

● **чрез директни анализи:** маса в грамовете на сумата от моно-, ди-, олигозахариди и полизахариди, но с изключване на влакнините.

Отделно трябва да изтъкнем и следното:

Хранителните влакнини са физиологична и хранителна концепция, третираща тези въглехидратни компоненти в храните, които не се усвояват в тънкото черво. Хранителните влакнини преминават неусвоени от тънкото в дебелото черво, където могат да ферментират под влияние на бактериите на чревната микрофлора. Крайният резултат ще бъдат променливи количества късоверижни мастни киселини и редица газове, като CO<sub>2</sub>, водород и метан. Късоверижните мастни киселини са важен пряк източник на енергия за лигавицата на дебелото черво, те преди всичко се абсорбират и участват в междинния метаболизъм.<sup>3</sup>

Съгласно химичната си природа хранителните влакнини включват: целулоза, хемицелулоза, лигнин и пектини от клетъчните стени на растенията. С по-дълбокото навлизане в същината на понятието „хранителни фибри“ са били предложени и редица методи за анализ. Много от тях определят различните съставки на фибрите, което обуславя в научното пространство голямото разнообразие от дефиниции за самите хранителни влакнини.

Три химически метода са били успешно тествани в междулабораторни колаборативни изпитвания и генерално възприети от организации като АОАС International и Bureau Communautaire de Reference (BCR) на ЕО.<sup>6</sup> Първият от тях е ензимно-гравиметричният метод на Prosky, 2000,

(АОАС 985.29);<sup>1</sup> Вторият е ензимен химичен метод на Englyst и Cummings<sup>4</sup> и последният – ензимен химичен метод на Theander и Aman.<sup>13</sup>

През 1996 г. Monro и Burlingame<sup>12</sup> изтъкват, че за определяне на стойностите на хранителните влакнини се прилагат най-малко 15 различни метода и същевременно се цитират в Базите данни за химичен състав на храни в отделните държави.

Наличието на такъв широк спектър от методи за анализ на хранителни фибри, всеки даващ до известна степен различни резултати, касае не само стойностите на хранителните влакнини в базата данни, но по същество засяга и стойностите на „наличните въглехидрати по разлика“.

### Препоръки

Въглехидратите следва да бъдат анализирани чрез метод, който позволява едновременно определянето на налични въглехидрати и хранителни влакнини. За целите на енергийната оценка директните анализи на налични въглехидрати чрез сумиране на индивидуалните въглехидрати е за предпочитане пред оценката на наличните въглехидрати по разлика. Този факт позволява аналитичното диференциране на моно- и дизахаридите от нишестето.

1. Определянето на налични въглехидрати по разлика се счита за приемливо за целите на енергийната оценка за повечето храни, но не за нови храни и храни с редуцирано енергийно съдържание. В тези случаи трябва да бъде извършен стандартизиран, директен анализ на наличните въглехидрати.

2. „Хранителните влакнини“ се явяват сами по себе си добре възприемана от потребителите хранителна съставка и стойностите им следва да присъстват върху етикетите на храните, както и в таблиците за химичен състав на храните. Тъй като физическата характеристика на „разтворимост/неразтворимост“ не корелира стриктно с другото свойство – „ферментация/неферментация“, разликата между разтворими и неразтворими влакнини не е предмет на разглеждане при оценка на енергийната стойност и в това отношение не представлява интерес за самия потребител.

3. За анализ на хранителни влакнини следва да бъдат използвани методите АОАС (2000), методът на Prosky (985.29) или подобен метод.

4. Когато не може да бъде използван методът на Prosky (985.29), стойностите на хранителните влакнини се идентифицират посредством т. нар. INFOODS tagnames.<sup>9</sup> INFOODS tagnames представляват стандартизирана номенклатура на компонентите в храната с цел хармонизиране на данните при техния международен обмен. Използването на общи

наименования на хранителните компоненти, които често се отнасят към редица методи за анализи или комбинация от химикали, може да повлияе върху количествените стойности на нутриентите в една и съща храна.

## Заклучение

Във всички страни информация за съдържанието на влага, протеин, мазнини и въглехидрати би следвало да се изисква като минимум критерии при попълване и изграждане на база данни за химичния състав на храни.

Избраният метод за анализ на нутриенти може да повлияе върху информацията, изисквана от потребителите за база данни за състав на храните: тя може да се различава от тази на групи потребители на състава, например такива, които се занимават с проучване и регулиране на химичния състав и качествения контрол на хранителната продукция. Получаването на благонадеждни данни за нутриентите изисква внимателна и прецизна работа на аналитика, следвайки принципите на осигуряване на качеството и добрата лабораторна практика.

Идентификацията на ключови храни и критични нутриенти е една от многото стъпки в оценката на качеството на съществуващите данни и методите за анализ.

**„Достатъчно на брой проучвания (анализи) на хранителни продукти би било огромно начинание... Единственото нещо, което може да се направи, е да се постави началото...“.**

(W. O. Atwater & C.D. Woods, 1896)<sup>2</sup>

### Книгопис

1. AOAC. 2000. In: Official Methods of Analysis, 17th ed., 2000, Gaithersburg, Maryland, USA, AOAC International.
2. Atwater, W.O. & C. D. Woods. The chemical composition of American food materials. In: US Official Experiment Stations, Experiment Station Bulletin No 28, 1896, Washington, DC.
3. Cummings, J.H. Short – chain fatty acids in the human colon. *Gut*, 1981, 22:763–779.
4. Englyst, H. N. & J. H. Cummings. Improved method for measurement of dietary fiber as non – polysaccharides in plant foods. *J Assoc Off Anal Chem*, 1988, 71:808–814.
5. FAO. 1994. Fats and oils in human nutrition. Report of a Joint Expert Consultation. *FAO Food and nutrition Paper*, No 57, 1994, Rome.
6. FAO. 1998. Carbohydrates in human nutrition. Report of a Joint FAO/WHO Expert consultation. *FAO Food and nutrition Paper*, No 66, 1998, Rome.
7. James, K.A.C., D.R. Body & W.C. Smith. A nutritional evaluation of orange roughly (*Hoplostethus atlanticus*) using growing pigs. *New Zealand Journal of Technology*, 2 1986, (4):219–223.
8. Jones, D.B. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins. *Circular*, No183, 1941.
9. Klensin et al. Identification of food components for INFOODS data interchange, 1989, Tokyo. United Nations University.
10. Merrill, A.L. & B.K. Watt. Energy value of foods, basis and derivation. In: *Agriculture Handbook No 74*, 1955.
11. Merrill, A.L. & B.K. Watt. Energy value of foods, basis and derivation. In: *Agriculture Handbook No 74*, 1973.
12. Monro, J. & B. Bullingame. Carbohydrates and related food components: INFOODS tagnames, meanings and uses. *J Food Composition and Analysis*, 1996, 9:100–118.
13. Theander, O. & P. Aman. Studies in dietary fiber: A method for the analysis and chemical characterization of total dietary fiber. *J Sci Food Agric*, 1982, 33:340.