

Aus dem Laboratorium für angewandte Ernährung
des National Research Center Dokki (Ägypten)
(Abteilungsleiter: Prof. Dr. S. R. M o r c o s)

Eine Möglichkeit zur Verbesserung der Eiweißqualität von Baladi-Brot durch Anreicherung mit synthetischen Aminosäuren

Von L. Hussein, G. N. Gabrial und S. R. Morcos

Mit 1 Abbildung und 3 Tabellen

(Eingegangen am 4. Juni 1973)

Nach Angabe der FAO (5) bestehen gegenwärtig in Ägypten 85 % des Proteingehaltes der Nahrung aus Pflanzenproteinen; davon entfallen 70 % auf Getreide, 12,4 % auf Hülsenfrüchte und der Rest auf verschiedene andere Pflanzenproteine. Die tägliche Proteinzufluhr beträgt im Durchschnitt 84 g. Kraut (II) hat Ägypten in die Gruppe mit ausreichender Versorgung an Gesamteiweiß in der Kwashiorkorzone eingeteilt. Das beruht auf einer einseitigen Ernährung wegen der dominierenden Stellung des Getreides in der Proteinzufluhr. Eine vollwertige Ernährung ist auf sehr verschiedene Weise realisierbar (24). Da Essgewohnheiten in den Entwicklungsländern eine ausschlaggebende Rolle spielen, ist die Entwicklung neuer Protein-Mischungen dadurch mit einigen Schwierigkeiten verbunden; günstiger liegen die Verhältnisse bei der Supplementierung mit isolierten Aminosäuren (18). Die wesentliche Verbesserung des nutritiven Wertes von Zerealien-Protein durch eine kombinierte Zulage von Lysin und Threonin konnte in mehreren Untersuchungen im Ausland bewiesen werden (8, 10, 13, 16).

Bei den vorliegenden Untersuchungen wurde das Baladi-Brot auf seine Aminosäurezusammensetzung analysiert. Das Aminosäuremuster diente als Grundlage zur Errechnung des „protein score“ und zur Beseitigung des Mangels an bestimmten essentiellen Aminosäuren. Das zur Untersuchung gelangte Brot wurde dann in einem Ernährungsversuch an Ratten ohne und mit Aminosäurezulagen verfüttert.

Methode

Das zur Untersuchung gelangende Baladi-Brot wurde aus dem Handel gekauft. Es handelt sich um Baladi-Brot (aus Weizenmehl mit 87 % Extraktion), das für Ägypten typisch ist. Es wird in Form von runden Laiben ohne Kruste hergestellt und wiegt im Durchschnitt 130 g/Laib.

Die Aminosäuren L-Lysinhydrochlorid und DL-Methionin wurden freundlicherweise von der Firma Degussa zur Verfügung gestellt. DL-Threonin wurde von BDH, England, gekauft.

Die Bestimmung der Aminosäuren in Baladi-Brot wurde nach der Methode von Heese et al. (6) durchgeführt¹⁾. Die Probe wurde vor der Säurehydrolyse mit Perameisensäure oxydiert. Dadurch werden Methionin und Cystein zu Methioninsulfon bzw. Cysteinsäuren umgewandelt und in diesen stabilen Formen analysiert.

Tryptophan wurde nach der Methode von Spies und Chamber (22) ermittelt, und zwar in Dreifach-Analysen.

Versuchsfutter

Für die Futterzusammensetzung wurde im wesentlichen auf die vom „Arbeitskreis für Proteinbewertung“ vorgeschlagene Grundfuttermischung zurückgegriffen (14), die aus Tab. 1 ersichtlich ist.

Durch die Prüfung von Casein mit Methionin als Referenz-Diät und von Baladi-Brot + Methionin ohne und mit zwei gleichmäßigen Abstufungen der Lysin- und Threoninzulagen ergaben sich vier Versuchsstufen, die in Tab. 1 beschrieben sind.

Tab. 1. Diäten der Versuchsgruppen

Komponente		A	B	C	Referenz-Casein
Baladi-Brot	%	72,63	71,37	70,46	—
Casein (BDH)	%	—	—	—	11,80
Rohrzucker	%	10,00	10,00	10,00	10,00
Baumwollsamenöl	%	5,00	5,00	5,00	5,00
Zellulosepulver	%	4,00	4,00	4,00	4,00
Mineralstoffmischung	%	6,00	6,00	6,00	6,00
Vitaminvormischung	%	2,00	2,00	2,00	2,00
DL-Methionin	%	0,50	0,50	0,50	0,50
L-Lysinhydrochlorid	%	—	0,120	0,240	—
DL-Threonin	%	—	0,044	0,088	—
Maisstärke ad.		100,00	100,0	100,00	100,00
Proteingehalt	%	9,53 ¹⁾	9,66 ¹⁾	9,77 ¹⁾	10,32 ²⁾
Lysingeinhalt	%	0,241	0,337	0,443	

¹⁾ N × 5,57

²⁾ N × 6,38

Allgemeines zur Versuchsdurchführung

In den vorliegenden Versuchen wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten im Alter von 21 Tagen als Versuchstiere eingesetzt. Die Tiere wurden vom Laboratorium für Serum und Impfstoffe, Dokki, geliefert. Die Ratten wurden bei ihrer Ankunft in Einzelkäfige gesetzt. Während einer dreitägigen Eingewöhnungszeit, die dem eigentlichen Versuchsbeginn vorausging, erhielten die Tiere ein Futter, das zu 50 % aus dem in der Zuchtanstalt gegebenen Aufzuchtfutter und zu 50 % aus den verschiedenen Versuchsmischungen (zu gleichen Anteilen) bestand. Die Versuchsperiode, die mit der Gruppeneinteilung begann, dauerte 21 Tage (24.-45. Lebenstag) und war in drei gleiche Abschnitte unterteilt. Die Tiere erhielten Futter und Wasser ad libitum. Jeder Versuchsabschnitt endete

¹⁾ Wir danken Herrn Dr. Schmidtborn und Herrn Dr. Tanner (Degussa Frankfurt) für die Durchführung der Aminosäureanalyse.

mit Futterentzug und der Rückwaage der Futterreste. Die Ratten wurden regelmäßig gewogen, um die „protein efficiency ratio“ der verschiedenen Diäten zu ermitteln.

Ergebnisse und Diskussion

Die Aminosäurezusammensetzung des Baladi-Brotes

In Tab. 2 ist die Aminosäurezusammensetzung des Baladi-Brotes zusammengestellt. Die Werte sind als % des Brotgewichtes und in mg/g Stickstoff ausgedrückt. Die Aminosäuren Histidin und Tyrosin wurden durch die Vorbehandlung der Probe mit Perameisensäure zerstört und sind in der Tabelle nicht enthalten. Histidin ist für den Menschen nicht essentiell, jedoch wird es zum Wachstum von Ratten benötigt. Dagegen ist Tyrosin eine semi-essentielle Aminosäure und ersetzt die Aminosäure Phenylalanin zum Teil in der Nahrung. Auf Grund von Literaturhinweisen über Histidin- und Tyrosingehaltsangaben für Weizenprotein sind mit

Tab. 2. Aminosäurezusammensetzung des Baladi-Brotes und des Ganzeies mit Gegenüberstellung des essentiellen Aminosäureverhältnisses zu der Summe der essentiellen Aminosäuren beider Produkte und der daraus berechnete „protein score“ des Brotes

Aminosäuren	in 100 g		Ganzei mg/g N	FAO Referenz- protein	2 × 100		Protein score 5/6
	Brot				1819,6	3 × 100 2918,75	
	1	2	3	4	5	6	7
Essentielle AS:							
Lysin	0,332	186,7	487,5	270	10,2	16,7	61,3
Methionin	0,155	86,8	200,0		8,2	6,8	100,0
Cystin	0,267	149,8	131,2		4,8	4,5	100,0
S-haltigen AS	0,422	236,6	331,2	275	13,0	11,3	100,0
Phenylalanin	0,477	267,9	343,7		14,7	11,8	100,0
Tyrosin			237,5				
Aromatische AS			581,2	360			
Leucin	0,753	422,8	550,0	305	23,2	18,8	100,0
Isoleucin	0,365	204,9	368,7	278	11,3	12,6	89,0
Valin	0,473	265,6	443,7	270	14,6	15,2	96,0
Threonin	0,300	168,5	306,2	180	9,3	10,5	88,0
Tryptophan	0,119	66,6	87,5	90	3,7	3,0	100,0
Summe essentiellen AS	3,241	1819,6	2918,7	2028			
Entbehrliche AS:							
Asparaginsäure	0,575	323,0	626				
Glutaminsäure	3,270	1835,9	816				
Alanin	0,379	212,5	382				
Prolin	1,119	528,1	203				
Serin	0,513	288,3	450				
Glycin	0,418	234,4	199				
Arginin	0,496	287,7	454				
NH ₃	0,462	259,6	126				
Summe	10,473	5880,1	6209,0				

131 bzw. 243 mg/g N zu rechnen (21). Die entsprechenden Werte in Eiprotein sind 162 bzw. 237 mg/g N (20).

Um den Vergleich der Bewertungsergebnisse zu erleichtern, wurde das „FAO-Referenzprotein“ sowie das Aminosäuremuster des Gesamteiproteins mit angegeben. Daraus ist zu ersehen, daß Lysin die erste limitierende Aminosäure des Baladi-Brotes ist. Weiter wurde das prozentuelle Verhältnis zwischen einem essentiellen Aminosäurewert zur Summe der essentiellen Aminosäuren angegeben. Die ermittelten Werte im Baladi-Brot und im Ganzei sind in der Tab. 2 einander gegenübergestellt. Nach der Berechnungsvorschrift der FAO (4) wird jede Aminosäure im Brot auf den betreffenden Wert im Eiprotein bezogen und daraus „protein-score“ berechnet. Wichtig ist auch die Ermittlung der Summe der essentiellen Aminosäuren pro g Stickstoff. Dieser Wert richtet sich nach der Verwertbarkeit des Stickstoffs der betreffenden Aminosäuren. Dieser Wert beträgt 1820 und 2919 mg/g N für Baladi-Brot bzw. Ganzeiprotein. Der Bezug auf die Aminosäurebedarfzahlen läßt erkennen, daß das Baladi-Brotprotein einem „protein-score“ von 61 entspricht.

Fütterungsversuch

Eine Übersicht über die Ergebnisse des Fütterungsversuches ist in Tab. 4 gegeben. Diät A erzeugte eine, wenn auch geringe, Gewichtszunahme. Die Supplementation der Baladi-Brot-Diät mit 0,12 % L-Lysinhydrochlorid und 0,044 % DL-Threonin verdoppelte die Werte für PER. Jedoch darf die Gesamtbewertung des Versuches nicht ohne Berücksichtigung der Futteraufnahme und der Gewichtszunahme der Ratten erfolgen, auch wenn letztere nicht als Bewertungskriterium statistisch bearbeitet wurde. Die Einschränkung der Futteraufnahme bei der O-Lysin/O-Threonin Baladi-Brot-Diät, im Vergleich zu derjenigen mit Lysin und Threoninsupplementation, ist ein deutliches Zeichen eines Aminosäuremangels. Demgegenüber weist die Casein-Diät relativ niedrigere PER-Werte auf. Der Grund dafür mag darin liegen, daß das Casein unter ungünstigen Lagerungsbedingungen aufbewahrt wurde.

Die Wirkung steigender Lysin- und Threoninzulagen zur Baladi-Brot-Diät

Nach den Berechnungen der Bedarfsdeckung und den daraus resultierenden Zulagen an Lysin und Threonin, war bei 0,20 % L-Lysin und 0,088 % DL-Threonin ein höherer Anstieg der Bemessungskriterien zu erwarten. Bereits bei der Gewichtsentwicklung zeigt sich eine klare Abstufung der verschiedenen Diäten. Der sich anschließende Duncan-Test (3) bei den PER-Werten zeigte eine hoch gesicherte Unterlegenheit des Baladi-Brotes mit null Lysinzulagen als alleinigem Proteinträger gegenüber den Gruppen B und C ($P < 0,01$). Die Casein + Methionin-Diät wurde von der Diät C nicht annähernd erreicht.

Bei der Prüfung auf Linearität ergab die Lysinaufnahme bei den drei Parametern Gewichtszunahme (24.–45. Lebenstag), Gewichtszunahme/100 g Futteraufnahme und PER-Werte sehr hohe gesicherte Korrelationskoeffizienten ($P < 0,001$). Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß wir bei der

Tab. 3. Lysinzulagen zu einer Baladi-Brot-Diät, supplementiert mit Methionin und Threonin. Durchschnittsergebnisse des Fütterungsversuches

Gruppe	Futter- aufnahme			Gewichts- zunahme g	PER 24.-45. Tag $\frac{1}{I}$	2×100 s			
	n	g	s						
		1		2	3	4			
Cas +	6	113,8	± 15,9	27,9	± 2,7	2,44	± 0,14	24,6	± 1,68
A	6	70,5	± 5,6	8,5	± 0,5	1,28	± 0,15	12,1	± 1,51
B	6	106,5	± 10,4	22,7	± 1,7	2,19	± 0,06	21,3	± 0,41
C	6	134,0	± 3,8	46,0	± 1,0	3,32	± 0,08	32,0	± 0,81

Einsetzung von Gesamtlysinaufnahme angenommen haben, die Verfügbarkeit des Lysins in Brot betrage um 80 %, wie die Mitteilungen von Calhoun et al. (2) gezeigt haben.

Aus dem Datenmaterial konnte mit Hilfe der Regressionsrechnung die Beziehung zwischen der Lysinaufnahme (X_1) zur jeweiligen Gewichtszunahme (Y_1), Gewichtszunahme/100 g Futteraufnahme (Y_2) und PER-Werten (Y_3) ermittelt werden. Für die rechnerische Bearbeitung standen die Meßdaten von insgesamt 18 Tieren zur Verfügung. An Hand der grafischen Darstellung (Abb. 1) können die Verhältnisse noch besser verdeutlicht werden.

Die angeführten Untersuchungen lassen folgende Schlußfolgerung zu: Vergleiche der gefundenen Aminosäuregehalte zeigen eine gute Übereinstimmung mit Literaturwerten auf Grund chemischer und mikrobiologischer Bestimmungen (2, 7, 9).

Bei der Betrachtung des Aminosäuremusters des Baladi-Brotes erkennt man ein Defizit an mehreren essentiellen Aminosäuren. Am stärksten ist der Mangel an Lysin bzw. Threonin. Hinsichtlich der Proteinqualität kann gesagt werden, daß der „protein-score“ der FAO ein brauchbares Bezugsystem ist, aber kein ideales „Aminogram“ für den Menschen darstellt. In mehreren Arbeiten wurde Kritik bezüglich der Aminosäureproportionen des „provisional pattern“ geübt, und es hat nicht an Vorschlägen gefehlt, andere Aminosäuremuster als Bezugsstandard aufzustellen (1, 12, 23). Die Summe der essentiellen Aminosäuren/g Stickstoff beträgt 1820 für das Baladi-Brot-Protein; der betreffende Wert ist 2919 für das Ganzeiprotein. (Die Aminosäuren Histidin und Tyrosin wurden in beiden Proteinen weggelassen.)

Der erste Wert beträgt 31,3 und der zweite 46,7 (50,5 %, wenn Tyrosin mitgerechnet wird) der betreffenden Gesamtaminosäuren.

Ein Protein-score von 61 wurde für das Baladi-Brot-Protein erhalten. Er ist mit dem in der Literatur berichteten Protein-score für Vollweizen vergleichbar (19).

In Übereinstimmung mit den in der Literatur beschriebenen Verfahren (15) sollte die Basaldiät nicht unbedingt alle Aminosäuren (außer Lysin) in einer Menge enthalten, die eine mindestens hundertprozentige Bedarfsdeckung gewährleistet; vielmehr sollte nur die Differenz in der Bedarfsdeckung zwischen Lysin und der nächsten limitierenden Aminosäure zur

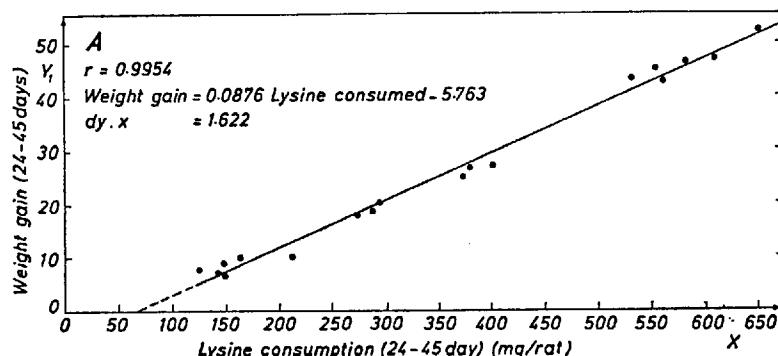


Abb. 1a. Veränderung der Gewichtsaufnahme (Y_1), Gewichtsaufnahme/100 g Futteraufnahme (Y_2) und PER-Werte (Y_3) in Abhängigkeit von Lysinaufnahme (X) bei Baladi-Brot-Diät.

Bestimmung der Wirkung von Lysinzulage verwendet werden, wobei zur Vergrößerung dieser Differenz eine Zulage an Threonin, der zweiten limitierenden Aminosäure des Brotproteins, geboten schien.

In der vorliegenden Arbeit wurde vorausgesetzt, daß bei der Zulage von 0,20 % L-Lysin in die Diät (das macht insgesamt 4,78 g Lysin/100 g Protein, 2,78 g davon kommen aus den Brotproteinen) die berechnete Lysinbedarfsdeckung zu etwa 80 % erreicht wurde. In diesem Sinne hat sich die Gewichtszunahme als ein geeignetes Bemessungskriterium erwiesen, wobei eine Verminderung der Futteraufnahme und Gewichtszunahme bei imbalancierten Getreiderationen beobachtet wurde (17). Beim Ausdrücken der Werte der Gewichtszunahme und Lysinaufnahme pro 100 g Futteraufnahme erhielt man einheitlichere Werte pro Gruppe. In dieser Arbeit wurden höhere PER-Werte nach Supplementation mit Lysin und Threonin erhalten, verglichen mit den betreffenden Werten, die von Niess (15) beobachtet wurden. Dieser Unterschied muß auf den Einfluß unbekannter Faktoren alimentärer oder haltungstechnischer Art bezogen wer-

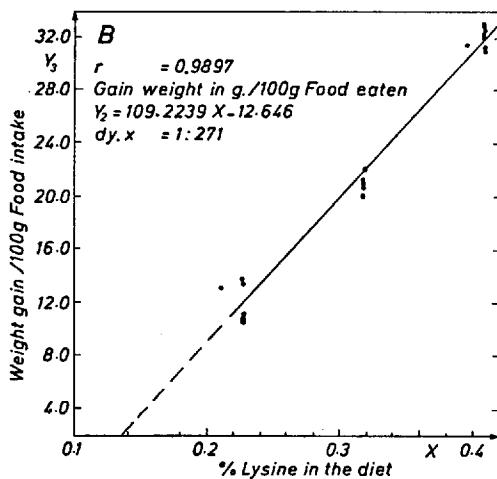


Abb. 1b (s. Leg. zu Abb. 1a).

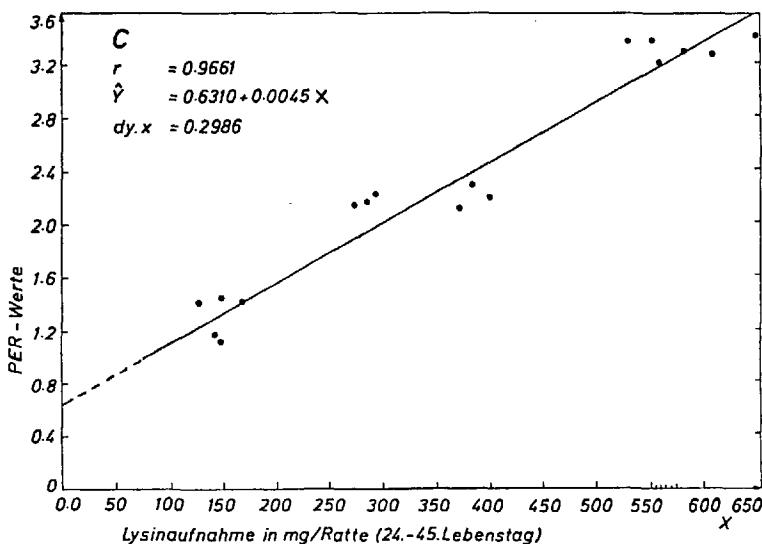


Abb. 1c (s. Leg. zu Abb. 1a).

den. Außerdem haben Calhoun et al. (2) höhere prozentuale Lysin- bzw. Tryptophanverfügbarkeiten im Brot im Vergleich zu den betreffenden Werten im Weizenmehl erhalten.

Aus den Regressionslinien ist zu entnehmen, daß man bei Extrapolierung der Regressionslinie, bis sie die Y-Achse überschneidet, schon bei einer täglichen Lysinaufnahme von ungefähr 8 mg/100 g Rattenlebensgewicht (umgerechnet auf 100 g Lebensgewicht) eine Wachstumshemmung erhält. Demgegenüber zeigt Abb. 1c einen PER-Wert von 0,66, wenn die Regressionslinie die Y-Achse überschneidet. Diese Ergebnisse stimmen mit den Befunden von Said und Hegsted (17a) überein, die gezeigt haben, daß erwachsene Ratten bei Lysin-freien Diäten nur minimale Verluste an Gewebeprotein gezeigt haben und sich an die Diät gut angepaßt haben, was mit der Theorie des Aminosäure-Score nicht besonders gut übereinstimmt.

Zusammenfassung

Der Aminosäuregehalt des Baladi-Brotes wurde bestimmt, um den Mangel an bestimmten essentiellen Aminosäuren abzustellen. Gemessen am „provisional pattern“ der FAO, hat das Brotprotein einen FAO-Protein-Score von 61.

Die limitierenden essentiellen Aminosäuren Lysin und Threonin wurden dann in freier Form zu Baladi-Brot-Diäten zugelegt, in denen das Baladi-Brot-Protein 10 % der Diät ausmachte. Die Ergänzung des Baladi-Brotes mit 0,24 % L-Lysinhydrochlorid; 0,088 % DL-Threonin und 0,50 % DL-Methionin erwies sich am besten und erhöhte die „protein efficiency ratio“ des Proteins auf einen Wert von 3,31, verglichen mit einem Wert von 1,28 für Baladi-Brot-Protein mit Methioninzulage allein.

Literatur

1. Bressani, R., O. Wilson, M. Béhar und N. S. Scrimshaw, J. Nutr. 79, 333 (1963). – 2. Calhoun, W. K., F. N. Hepburn und W. B. Bradley, J. Nutr. 70, 337 (1960). – 3. Duncan, D. B., Biometrics 1, 1 (1955). – 4. FAO Nutr. Meetings Report

Ser. No. 37; Joint FAO/WHO Expert Group (Rome 1965). – 5. FAO Production Year Book 20, 430 (1966). – 6. *Heese, J., G. Jahn und R. Fahnstich*, Z. Tierphysiol., -ernährg. und Futtermittelkde. 28, 307 (1972). – 7. *Hepburn, F. N., W. K. Calhoun und W. B. Bradley*, Cereal Chem. 43, 271 (1966). – 8. *Howe, E. E., G. R. Jansen und E. W. Gilfillan*, Am. J. Clin. Nutr. 16, 315 (1965). – 9. *Jamalian, J. und P. L. Pelett*, J. Sc. Fd Agric. 19, 378 (1968). – 10. *Jenneskens, P. J.*, Cereal Sc. Today (1969). – 11. *Kraut, H.*, Naturwissenschaften 50, 654 (1963). – 12. *Leverton, R. M. und D. Steel*, J. Nutr. 78, 10 (1962). – 13. *Matthews, R. H., G. Richardson und H. Lichtenstein*, Cereal Chem. 47, 14 (1969). – 14. *Miller, R.*, Z. Tierphysiol., -ernährg. und Futtermittelkde. 19, 257 (1964). – 15. *Niess, E.*, Dissertation Bonn (1967). – 16. *Rosenberg, H. R., R. Culik und R. E. Eckert*, J. Nutr. 69, 217 (1959). – 17. *Sanahuga, J. C., M. E. Rio und M. N. Lede*, J. Nutr. 86, 424 (1965). – 18. *Schröder, I.*, Wissenschaftliche Z. d. Univ. Rostock 18, 531 (1969). – 19. *Sebrell, W. H. und D. B. Hand*, In: Amino Acid Malnutrition W. Cole (Ed.), Rutgers Univ. Press, p. 47 (1957). – 20. *Sheffner, L.*, in: Newer Methods of Nutritional Biochemistry, A. Albanese (Ed.), Vol. 3, p. 125, A. P. (1967). – 21. *Simmermann, B.*, Dissertation Bonn (1959). – 22. *Spies, J. R. und D. C. Chamber*, Analyt. Chem. 21, 1249 (1949). – 23. *Swaminathan, M.*, Proceed. VI. Intern. Congr. Nutr. Edinburgh (1964). – 24. *Wirths, W.*, Agrarwirtschaft 6, 3 (1963). – 17 a. *Said, A. K. und D. M. Hegsted*, J. Nutr. 100, 1363 (1970).

Anschrift der Verfasser:
National Research Center
Kairo-Attaba, Postfach 2464, Ägypten