

III. DERLEMELER



PROTEİNLERİN BİYOLOJİK DEĞERLERİNİN TAYİNİNDE KULLANILAN METOTLAR

Ayhan AKSOY¹

Nihat ÖZEN²

Ö Z E T

Proteinlerin biyolojik değerleri arasındaki farklılıklar, büyük ölçüde onların amino asit yapıları arasındaki farklılıklardan ileri gelmektedir. Bununla beraber, proteinlerin biyolojik değerlerini sadece amino asit kompozisyonları ile izah etmek güçtür. Çünkü bunun yanında proteinlerin sindirilebilen kısmında bulunan amino asitlerin miktarları ile bunların birbirlerine oranları da önemlidir. Bu bakımdan proteinlerin biyolojik değerlerinin hayvanlarda yapılacak biyolojik deneylerle saptamak zorunlu olmaktadır.

Proteinlerin biyolojik değerlerini ölçmeye yarayan çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bunların en önemlileri: 1. Nitrojen dengesi metodu 2. Thomas-Mitchell metodu, 3. Protein yarıyıllık oranı, 4. Minimum protein metodu, 5. Yumurta ikame değeri, 6. Fare replasyon metodu, 7. Nitrojen bulans endeksi, 8. Kimyasal puanlama metodu, 9. Esansiyel amino asit endeksi, 10. Net proteinden yararlanma. Bu metotlarla değişik laboratuarlardan elde edilen neticelerin büyük farklılıklar göstermemesi için çeşitli standart yöntemler geliştirilmiştir.

(1) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü Doçenti.

(2) Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü Dr. Asistanı.

A. GİRİŞ

«Protein» terimi ilk defa 1838'de G.J. Mulder tarafından kullanılmıştır (13). Mulder 1840'larda hayvanların, protein yönünden bitkilere bağlı olduğunu (5); 1847'de de bitkisel proteinlerle hayvansal proteinlerin eş değerli kabul edilemeyeceğini belirtmiştir (13).

1847'de Magendie, köpeklerle yaptığı denemelerde, çeşitli proteinlerin farklı besleme değerlerine sahip olduklarını (13); 1897'de de Rubner değişik orijinli proteinlerin besleme yönünden aynı değerde olmadıklarını ispatlamışlardır (5).

Yirminci asrın başlarına kadar, besleme yönünden sadece tüm, yani parçalanmamış proteinlerden tatminkar bir şekilde faydalanıldığına inanılmakta idi. Buna rağmen Leowi 1902'de, köpeklerde yaşama payı nitrojen dengesini, pankreatik otolizatlarla sağlamayı başarmıştır. Bundan bir sene sonra, yani 1903'de Dean, aynı başarıyı etin sülfirik asit hidroliz ürünlerini kullanarak elde etmiştir (5).

1938'lerde Rose ve çalışma arkadaşları, farelerle yaptıkları bir seri denemede uygun amino asit karışımları kullanarak hem, nitrojen kaynağı olarak sadece amino asitlerini kullanmak suretiyle hayvanların yaşayabileceklerini ispatlamışlar, hem de amino asitlerden hangilerinin diyetset olarak mutlaka gerekli, hangilerinin gereksiz olduğunu saptamışlardır (13).

Çeşitli proteinlerin biyolojik değerleri arasındaki farklılıklar, büyük ölçüde amino asit yapıları arasındaki farklılıklardan ileri gelmektedir. Bu duruma göre iyi bir protein kaynağı ile:

1. Yeterli miktarda protein sağlanmalıdır.

2. Yaşama payı, büyüme v.b. için, vücutta yeterli miktarlarda sentezlenemeyen amino asitler, elverişli düzeylerde sağlanmalı; bir başka ifade ile amino asitler arasından belirli bir oran bulunmalıdır.

3. Proteinin bünyesinde bulunan amino asitler sindirim sisteminde kolayca serbest hale geçebilmeli ve absorbe edilebilmelidir.

Herhangi bir proteinin besin değerini sadece amino asit kompozisyonu ile açıklamak zordur. Zira, yukarıda da belirtildiği gibi, önemli olan, proteinin sindirilebilen kısmında bulunan amino asitlerin miktarları ile, bunların birbirlerine oranlarıdır. Bu bakımdan proteinlerin biyolojik değerlerini hayvanlarda yapılacak biyolojik denemelerle tayin etmek zorunlu olmaktadır (21).

Bu derlemenin amacı biyolojik değer tayin yöntemleri hakkında bu alanda çalışmalar yapacak olan araştırmacılar için derli toplu bilgiler sağlamaktır. Biyolojik değerle ilgili metotları açıklayan çok sayıda yabancı literatür mevcutsa da halihazırda, bu alanda Türkçe olarak neşredilmiş eser sayısı çok azdır. Bu bakımdan bu

derlemenin yararlı olabileceğini ümit ediyoruz.

B. PROTEİNLERİN BİYO- LOK DEĞERLERİNİN TESBİTİN- DE KULLANILAN METODLAR

I — NİTROGEN DENGESİ METODU (The Nitrogen Balance Method)

Nitrojen dengesi, vücutta tutulan nitrojenin direkt bir ölçüsüdür. Nitrojen dengesi (B), «Alınan diyet nitrojeni ile ekskresyona uğrayan nitrojen arasındaki fark» olarak tarif edilmekte ve

$B = I (UN + FN)$ şeklinde formüle edilmektedir (1).

Formülde B = Nitrojen dengesi; I = Alınan diyet nitrojeni; UN = Vücuttan atılan idrar nitrojeni (Üriner nitrojen); FN = Fekal nitrojeni ifade etmektedir.

Nitrojen dengesi vücudun bütün dokularında meydana gelmesi mümkün olan kazanç ve kayıpların hepsini ifade etmektedir. Bu nedenle de proteinlerin biyolojik değerlerini nitrojen dengesine dayanarak saptamak mümkündür. Kriter olarak aşağıdaki formülle hesaplanan «absorbe edilen nitrojenin vücutta, yüzde olarak tutulma oranı» alınır (1,13).

$$B = \frac{I - (UN + FN)}{I - FN} \times 100$$

Formülde pay nitrojen dengesine, payda ise absorbe edilen nitrojene tekabül eder.

Bu tip hesaplamalarda gerekli olan rakamların elde edilmesi için bir nitrojen bilanço denemesinin yapılması lâzımdır. Normal veya normale yakın büyüme, ancak pozitif nitrojen dengesiyle sağlanabileceğinden, diyetteki protein düzeyi bu dengeyi temin edecek yükseklikte olmalıdır. Aynı şekilde, maksimum büyüme için ihtiyaç duyulan miktardan fazla protein verildiğinde, ihtiyacın fazlası katabolize edilerek ekskresyona tabi tutulacağından biyolojik değer gerçek değerden düşük olacaktır. Bu yüzden bildirilen ihtiyaçların üstüne çıkılmamalıdır (18).

Nitrojen bilanço denemelerinde, protein dışında kalan diğer besin maddeleri de uygun miktarlar içerisinde verilmelidir. Zira, nitrojen dengesini protein düzeyinden başka, amino asit dengesizliği, alınan kalori miktarı gibi faktörler de etkilemektedir. Ayrıca, amino asit dengesizliği yem tüketiminin azalmasına sebep olmaktadır (16, 17).

Mitchell (20), bu metodun biyolojik değerlerin tam bir ifadesi olmayacağını iddia etmiştir. Mitchell'in iddiasına göre, formülde dokuların hayatsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için yaptıkları protein harcamaları yani, yaşama payı ihtiyaçları hesaba katılmaktadır. Halbuki kesrin payı, yaşama payı olarak kullanılan nitrojeni, yani endojen nitrojen kayıplarını da ihtiva etmelidir.

2 — THOMAS - MITCHELL METODU (The Thomas - Mitchell Method)

Thomas 1909 yılında; biyolojik değeri daha esaslı bir şekilde ifade eden ve sonuçları daha az farklılık gösteren yeni bir ölçü geliştirmiştir. Kendisi, bizzat kendi üzerinde, nitrojensiz bir diyet ve birkaç test diyetle, idrarla dışarı attığı nitrojen miktarını tesbit etmiş ve fecesteki metabolik nitrojen hakkında birbirinden farklı varsayımlara dayanan üç ayrı formül geliştirmiştir (13).

Birinci formülde, fecesteki nitrojenin tamamının metabolik olduğunu kabul etmiştir. Buna göre,

$$(I) \quad BD = 100 \times \frac{EN + B}{I - FN}$$

İkinci formülde, fecesteki nitrojenin hiç birinin metabolik orijini olmadığı kabul edilmektedir.

$$(II) \quad BD = 100 \times \frac{EN + FN + B}{I}$$

Yukardaki iki formül, fazla miktarda selüloz kapsayan besin maddelerinde iyi sonuç vermediğinden, Thomas, metabolik fekal nitrojeni (MFN), bitkilerdeki gibi 1,0 kabul ederek üçüncü bir formül daha düzenlemiştir.

$$(III) \quad BD = 100 \times \frac{EN + B + 1,0}{I - FN + 1,0}$$

Mitchell (20), bu son formülü metabolik fekal nitrojen yönünden bir düzeltme yaparak genişletmiş ve biyolojik değeri formülünü,

$$BD = 100 \times \frac{B + EN + MFN}{I - FN + MFN}$$

şekline sokmuştur.

En sn olarak Mitchell, (B) nin eşidi olan I — (FN+UN) ifadesini yerine koymak suretiyle,

$$BD = 100 \times \frac{I - (FN - MFN) - (UN - EN)}{I - (FN - MFN)}$$

formülünü elde etmiştir (13, 22)

1959'da Brouwer, Mitchell'in BD formülünde yeniden düzeltme yaparak aşağıdaki formülü geliştirmiştir (13).

$$BD = 100 - 100 \times \frac{UN - EN}{I - FN + MFN} \text{ veya}$$

$$BD = 100 - 100 \times \frac{UN - EN}{\text{Absorbe edilmiş N.}}$$

Nitrojen dengesi metodunda verilen biyolojik değer formülünden farklı olarak, yukarıdaki formüllerin payları, büyüyen dokular için kullanılan proteine ilâve olarak, yaşama payı için kullanılan proteini de kapsamaktadır (18).

Biyolojik değerin bu metotla hesaplanmasında en zor olan taraf metodu uygulamanın uzun zaman alması ve idrar nitrojeninden ne kadarının metabolik olduğunun saptanmasıdır. Metabolik fekal nitrojene ve endojen nitrojene ait değerler, proteinli diyetlerle tayin edilemezler. Ancak, nitrojensiz diyetle beslenen bir kontrol grubundan elde edilen endojen nitrojen

ve metabolik fekal nitrojen rakamları kullanılabilir (13).

Bu hususta sık sık karşılaşılan bir güçlük vardır. Bazı hayvan türleri nitrojensiz diyetlerden, enerji ihtiyaçlarını karşılayacak miktarlarda yemezler. Bu da endojen nitrojen miktarına ait gerçek değerlerin elde edilmesini önler (18). Bu güçlüğü ortadan kaldırmak için çeşitli uygulamalar geliştirilmiştir:

1. Nitrojensiz diyetlere, yararlanılma nisbetleri % 100'e yakın olan süt veya yumurta proteinlerinden az miktarda (% 4 kadar) katılabilir (22).

2. Bazı araştırmacılar, nitrojensiz diyet kullanmak yerine metabolik fekal nitrojeni de bazal metabolizmadan hesaplamışlardır (18).

3. Diğer bir kısım araştırmacı ise, tüketilen her ünite kuru maddeye isabet eden metabolik fekal nitrojenin ve vücut ağırlığının her ünitesine isabet eden endojen nitrojenin, literatürlerdeki değerlerini kullanmışlardır (13).

Thomas — Mitchel metodu farelere, insanlara, tavuklara ve hemen hemen bütün hayvanlara uygulanmıştır. Tatbikatta bu yolla bulunan, çeşitli proteinlere ait değerler 0-100 arasında değişmektedir (22).

Bu metot, biyolojik değerlerin en yaygın bir ölçüsü olarak günümüze kadar kullanılagelmiştir. Mitchell ve çalışma arkadaşları 1936'

da, metodun doğruluğunu göstermek için, 12 senelik biyolojik değer rakamlarını ele almışlardır. Bu süre zarfında bulunan, aynı yemlere ait biyolojik değer rakamları 3,7'lik bir standart sapma ve 1,2'lik bir standart hata göstermektedir ki, bu da metodun doğruluğu hakkında bir fikir vermektedir (22).

3 — PROTEİN YARAYIŞLILIK ORANI (The Protein Efficiency Ratio)

Thomas — Mitchell metodu kesin metabolizma rakamları istemektedir. Bu nedenle Osborne, Mendell ve Ferry 1919'da vücut ağırlığındaki artış ile vücut proteinlerindeki artış arasındaki pozitif korelasyona dayanarak basit bir biyolojik değer tayin metodu geliştirmişlerdir (1). Protein yararlılık oranı (P.E.R.) olarak bilinen bu metot bazı literatürlerde «Growth Promoting Value» adıyla anılmaktadır (18,21).

Uygulamada, P.E.R. değerleri tayin edilecek proteinler, nitrojensiz bir diyetle veyahutta herhangi bir bazal diyetle mukayese edilirler. Bunun için bazal diyet ve test diyetleri ile beslenen grupların yem tüketimleri ve ağırlık artışlarına ait kayıtlar tutulur. Bu kayıtlara dayanarak P.E.R. değerleri

$$\text{P.E.R.} = \frac{\text{Ağırlık Artışı}}{\text{Vücuda alınan protein}}$$

formülüyle hesaplanır (13).

P.E.R.'e etkili olan en önemli faktörler, diyetlerin protein düzeyleri, hayvanların yaşı, cinsiyeti ve ırkı, deneme süresi ve yemleme metodudur.

P.E.R. denemelerinde ekseriya % 10 protein ihtiva eden diyetler kullanılmakta ve deneme süresi de 4-6 hafta arasında değişmektedir. Bununla beraber dört haftadan kısa süreli deneme peryotları da kullanılmıştır. Bender ve Doell (4), P.E.R. değerlerini bir haftalık veya 10 günlük denemelerden hesaplamışlardır. Werman (26) da kullanılan bütün kriterlerin 12. günden sonra kesin olarak ortaya çıktığını belirtmektedir.

P.E.R. çalışmalarında, başta **ad libitum** olmak üzere çeşitli yemleme sistemleri kullanılmaktadır. Mitchell (21), sınırlı yemlemenin deneme sonuçlarındaki varyasyonu azalttığını; bu nedenle, sınırlı yemlenenin **ad libitum** yemlemeye tercih edilmesi gerektiğini öne sürmektedir. Campbell (6)'a göre ise, sınırlandırmanın hangi düzeyde yapılacağı ve bunun gruplar arasında nasıl muhafaza edileceği önemli bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır. Bu açıdan değerlendirildiğinde araştırmacı **ad libitum** yemlemenin tercih edilmesi gerektiğini iddia etmektedir.

Block ve Mitchell (4), değişik laboratuvarlardan farklı tekniklerle elde edilen P.E.R. değerlerinin karşılaştırılabilmesi için standart bir metodun ortaya konması gerektiğini belirtmişlerdir. Derse (9, 10, 11) Capman ve çalışma ar-

kadaşları (7), bu amaçla standart yöntemler geliştirmişlerdir.

P.E.R. basit ve yaygın bir metod olmasına rağmen bir çok tenkitlere maruz kalmıştır. Mitchell (21), Bender ve Doell (4), bu tenkitleri şöyle sıralamaktadır: a) Vücuttaki ağırlık artışı, kompozisyon yönünden sabit kabul edilemez. Bu nedenle, ağırlık artışı vücuttaki protein artışının ancak zayıf bir ölçüsü olabilir. b) Neticeler diyetin protein düzeyi ile ve besin madde alımı ile değişebilir. c) P. E. R. de yaşama payı ihtiyaçları, yani endojen nitrojen hesabına katıldığı halde, alınan proteinin tamamının büyüme için kullanıldığı farzedilmektedir. Bu yüzden büyüme temin etmeyen proteinlerin biyolojik değerleri P.E.R. ile ölçülemez.

Campbell (6), bu tenkitleri teker teker irdeliyerek birçok yönlerden haksız olduklarını ortaya koymuştur.

4 — MİNİMUM PROTEİN METODU (The Protein Minima)

Nitrojen dengesinin muhafaza edilebilmesi için lüzumlu olan protein miktarının saptanması ve bunun biyolojik değer ölçüsü olarak kullanılması ilk olarak 1936-1937'de Melnick ve çalışma arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir. Adı geçen araştırmacılar, vücuda denge için alınan minimum protein miktarındaki farklılıkların sınırlı (Limit) esaslı amino asit alımlarındaki farklılıklardan ileri geldiğini, dolayısıyla protein minimumunun

biyolojik değerin hassas bir ölçüsü olabileceğini ifade etmişlerdir (1).

Bu metotta ölçü olarak, diyetteki proteinin nitrojen dengesini sağlayan minimum miktarı kullanılmaktadır. Metodun sahibi olan araştırmacılara göre denemelere, protein düzeyi ancak negatif bir nitrojen dengesi sağlayacak kadar düşük diyetlerle başlamak gerekir. Daha sonra, diyetlerin protein düzeyleri yavaş yavaş artırılarak, nitrojen dengesini sağlayan miktarlar tesbit edilir. Esas deneme süresi genellikle 4 gündür. Ön ve ara adaptasyon devreleri de yaklaşık olarak 7'şer gün sürer (13).

Bu metot, Thomas-Mitchell metodundaki kadar doğru sonuç vermez. Zira, elde edilen sonuçları, proteinle birlikte vücuda alınan diğer besin maddelerinin tabiatları, diyetin miktar ve kalite yönünden noksan olması, verilen yemin kalorik değeri, deneme hayvanlarının daha önceki beslenme durumları v.b. gibi faktörler etkilemektedir (13).

5 — YUMURTA İKAME DEĞERİ (The Egg Replacement Value)

Yumurta ikame değeri, nitrojen dengesine dayanan bir metot olup, 1938'lerde Murlin ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu metotta standart protein olarak yumurta proteini kullanılmakta ve yumurta proteini ile sağlanan nitrojen dengesi, test proteinleri ile karşılaştırılmaktadır.

Buna göre, bir proteinin yumurta ikame değeri: yumurta diyeti ile, test diyetine ait nitrojen dengeleri arasındaki fark, yumurta nitrojenine bölünmek suretiyle hesaplanmaktadır. İkame değerinin (İD) hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmaktadır (1, 13, 21) :

$$İD = 100 - 100 \times \frac{B_1 - B_2}{I}$$

Formülde B_1 = yumurta proteinli diyetle sağlanan nitrojen dengesine; B_2 = Test proteinli diyetle sağlanan nitrojen dengesine; I = Yumurta proteinli diyetle vücuda alınan nitrojene eşittir.

6. FARE REPLESYON METODU (The Rat Repletion Method)

1944'de Cannon ve çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen bu metotla, ergin farelerin protein rezervlerini tüketmek yani deplezyona uğratmak sonra da bu rezervleri tekrar yerine koymak, yani replesyona uğratmak suretiyle, proteinlerin biyolojik değerlerini çabuk ve doğru olarak hesaplamak mümkün olmaktadır (1).

Bunun için, farelerin protein rezervleri, canlı ağırlıklarının % 25'ini kaybedinceye kadar protein-siz diyetlerle beslemek suretiyle boşaltılır. Daha sonra 7-14 gün süreyle, % 9 düzeyinde test proteini kapsayan diyetler verilerek, bu rezervlerin yenilenmeleri sağlanır ve meydana gelen replasyonun nisbetti ölçü olarak kullanılır (13) .

Repleasyon süresince, ağırlık kazançları ile, karaciğer ve karkas proteinlerinin yenilenmeleri arasında sıkı bir korelasyon tesbit edilmiştir. Bu nedenle, hemoglobin total plazma proteinleri, karaciğer ve karkas proteinleri de bu metotta kriter olarak kullanılmaktadır (1).

Frost ve Sandy (15) depleasyon - repleasyon devrelerini 12'şer gün olarak saptamışlardır. Bir başka denemelerinde yine Frost ve Sandy (16) repleasyon metodunda farelere % 14 proteinli diyetler yedirmişlerdir.

Summers ve Fisher (24) bu metodu büyüyen civcivlere, Wessels ve Fisher (27) ergin horozlara uygulamışlardır.

7 — NİTROJEN DENGE ENDEKSİ (The Nitrogen Balance Index)

Allison ve Anderson 1945'de nitrojen dengesi ile absorbe edilen nitrojen arasında linear bir ilişki tesbit etmişler ve bu ilişkiyi

$B = K (AN) - EN$ eşitliği ile ifade etmişlerdir (1).

Formülde B = Nitrojen dengesine (Balance); AN = Absorbe edilen nitrojene; EN = Protein-siz diyetle beslenen hayvanların üre ve feces nitrojenleri toplamına eşittir. (K) ise, matematiksel olarak aradaki linear ilişkiyi belirten doğrunun eğimi olup, «Nitrojen dengesinin, absorbe edilen nitrojen denilen ileri gelen değişme oranı»nı ifade etmektedir.

Nitrojen denge endeksi olarak adlandırılan (K), linear bölgede iki ayrı deneme ile hesaplanabilir. Bu durumda,

$$K = \frac{(B_2 - B_1) + (EN_2 - EN_1)}{AN_2 - AN_1}$$

olur (13).

B_1 , EN_1 ve AN_1 proteinsiz bir peryoda ait iseler, (K) Mitchell'in biyolojik değerinden farksızdır. Bu bakımdan nitrojen denge endeksi, Thomas - Mitchell metodunun değişik bir ifade şekli olarak kabul edilebilir (13,22).

Ayrıca, negatif veya düşük pozitif denge durumlarında, nitrojen alımı (I) ile nitrojen dengesi arasında da aşağıdaki eşitlikle ifade edilebilen bir ilişki vardır (1).

$$B = K' (I) - EN$$

Bu formülden hareket ederek sindirilme derecesi (D) için de ayrı bir formül teşkil edebilir ve böylece $D = K'/K$ yazılabilir.

8 — KİMYASAL PUANLAMA METODU (The Chemical Score Method)

Proteinlerin amino asit kompozisyonları ile, biyolojik değerleri arasındaki ilişki üzerinde yapılan çalışmalar, dikkatlerin sınırlı düzeydeki amino asitler üzerine çevrilmesine yol açmıştır. Block ve Mitchell (5), çeşitli besin maddelerindeki proteinlerin amino asit kompozisyonlarını yumurta proteinleri ile karşılaştırmışlardır. Adı geçen araştırmacılar, yumurta

proteinini amino asit dağılışı bakımından referans kabul ederek, denenen proteinde, bu dağılışa göre en fazla noksan olan esansiyel amino asidini sınırlı esansiyel amino asit olarak tarif etmişlerdir.

Kimyasal puanlama metodunda ölçü olarak, ele alınan protein veya protein karışımından en fazla noksan olan esansiyel amino asidinin noksanlık yüzdesi alınmaktadır. Herhangi bir esansiyel amino asidinin tamamen noksan oluşu halinde bu değer ya 100 olarak veyahutta 0 olarak alınmaktadır (13).

Proteinlerin amino asit kompozisyonlarının tesbit edilmeleri, hayvanlarla biyolojik değerlendirme yapmaktan daha kolay ve daha süratlidir. Metot bu bakımdan üstündür. Fakat, alınan kriterin tek amino asidine dayanması ve biyolojik değeri tek bir esansiyel amino asitle izah etmenin güç oluşu nedeniyle de eksiktir. Nitekim, kimyasal puanlama metoduyla elde edilen neticeler nisbeten geniş farklılıklar göstermektedir (6,13).

9 — ESANSİYEL AMİNO ASİT ENDEKS METODU (The Method of Essential Amino Acid Index).

1951'de Oser (23), bütün esansiyel amino asitlerini içine alan ve «Esansiyel amino asit endeksi» adını alan bir biyolojik değer tayin metodu geliştirmiştir. Oser, standart protein olarak yunurta proteinini almış ve hesaplamalarda, besin maddelerindeki esansi-

yel amino asitlerinin yumurta proteinindeki esansiyel amino asitlerine oranlarını kullanmıştır.

Esansiyel amino asit indeksi (EAAİ) aşağıdaki formüllerle hesaplanmaktadır.

$$EAAİ = \sqrt[n]{\frac{100 \text{ ap}}{ae} \times \frac{100 \text{ bp}}{be} \times \dots \times \frac{100 \text{ np}}{ne}}$$

veya logaritmik olarak,

$$EAAİ = \frac{1}{10} \left(\text{Log} \frac{100 \text{ ap}}{ae} + \text{log} \frac{100 \text{ bp}}{be} + \dots + \text{Log} \frac{100 \text{ np}}{ne} \right)$$

Burada, ap, ap, ..., np denenen proteinde bulunan 10 esansiyel amino asidinin (Arginin ve Histidin dahil) yüzde oranlarını; ae, be..., ne ise aynı amino asitlerin yumurta proteinindeki yüzdeleri ni ifade eder.

Bu formüllerle hesaplama yapabilmek için «Bir yemdeki herhangi bir amino asidinin, standart proteindeki aynı amino asidine oranı, minimum % 1 ve maksimum % 100 arasında değişir» şeklinde bir varsayım kabul edilmiştir. (13,23).

Oser (23), esansiyel amino asit endeksi ile biyolojik değer (BD) arasında $EAAİ = 7.38 + 0.877 (BD)$ regresyon denklemi ile ifade edilen bir ilişkinin bulunduğunu; bu ilişkiye ait korelasyon katsayısının ise $r = 0.85 \pm 0.05$ olduğunu belirtmektedir.

Bu metotta 8-10 amino asidi analizine ihtiyaç vardır. Bu nedenle bazı araştırmacılar, «Basitleştirilmiş kimyasal puanlama» (The Simplified Chemical Score) adı verilen yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. Basitleştirilmiş kimyasal puanlama metodunda ölçü olarak, bütün esansiyel amino asitler yerine besin maddelerinin hemen hemen hepsinde sınırlı düzeylerde noksan olan lizin, metiyonin ve sistin'in elverişlilik durumları alınmaktadır (6).

10 — NET PROTEİNDEN YARARLANMA (Net Protein Utilization)

Bender ve Miller (2), sonuçları Thomas - Mitchell metoduna benzeyen, fakat çok daha basit ve kolay olan bir metot geliştirmişlerdir. Araştırmacılar net proteinden yararlanma (N.P.U). adını verdikleri bu metodu ortaya koyarken, her biri farklı batında doğmuş dört hayvandan müteşekkil gruplardan birini proteinsiz veya % 4,5 yumurta proteinli diyetle; geriye kalan yedi grubu da % 10 protein ihtiva eden test diyetleri ile 10 gün müddetle beslemişlerdir. Ayı kafeslerde muhafaza edilen grupların yem tüketimleri tesbit edilmiştir. Deneme sonunda hayvanlar öldürülerek vücut nitrojenleri tayin edilmiş ve N.P.U. değerleri vücut nitrojeninde meydana gelen artışlardan, düşük nitrojenli grup da hesaba katılmak suretiyle hesaplanmıştır. Hesaplanmalarda,

$$\text{N.P.U.} = \frac{B_f - B_k + I_k}{I_f}$$

formülü uygulanmıştır.

Formüldeki B_f = Test grubundaki hayvanların vücut nitrojenlerine; B_k = Nitrojensiz gruptaki hayvanların vücut nitrojenine; I_f = Test diyeti ile alınan nitrojene; I_k = Nitrojensiz diyetle alınan nitrojene tekabül etmektedir.

Yine Bender ve Miller (3), vücut nitrojeninin tesbit edilmesinde, direkt nitrojen analizi yerine daha pratik bir yol geliştirmişlerdir. Bu yeni usulde, vücutta nitrojen analizi yapılmasına lüzum yoktur. Nitrojen kapsamı, vücuttaki su nisbeti ile vücut nitrojeni ve yaş arasındaki ilgiyi belirten regresyon eşitliklerinden daydalanılarak hesaplanmaktadır.

Miller ve Bender (19), proteinin sindirilme derecesini (D) veren bir formül geliştirmişlerdir. Formül,

$$D = \frac{I_f - (F - F_k)}{I_f} \text{ şeklindedir.}$$

Formülde F = Test diyetiyle beslenen hayvanların fekal nitrojenlerine; F_k = Kontrol diyetiyle beslenen hayvanların fekal nitrojenlerine; I_f = Test grubundaki hayvanların aldıkları nitrojene eşittir. Buradaki (F_k), metabolik fekal nitrojene (MFN) eşittir. Bu nedenle pay, Mitchell'in biyolojik değer formülündeki «Nitrojen alımı — (Fekal N — MFN)» ifadesine eşittir. (D) de gerçek sindirilebilirlik olarak ifade edilebilir. Bu durumda, Mitchell'in biyolojik değer formülü,

$$BD = \frac{N.P.U.}{D} \text{ şeklinde yazılabılır ki buradan da,}$$

$$N.P.U. = BD \times D \text{ yazılabilir.}$$

De Muelenaere ve çalışma arkadaşları (8), Summers ve Fisher (25), Fisher ve çalışma arkadaşları (14) N.P.U. metodunu civcivlere başarı ile uygulamışlardır.

11 — DİĞER METOTLAR

a) Gros Protein Değeri (Gross Protein Value)

Gros protein Değeri (G.P.V.) ilk olarak 1939'da Heiman ve çalışma arkadaşları tarafından ortaya konmuştur. Buna göre,

$$G.P.V. = 100 \times \left(\frac{\text{Test diyetindeki her gram ilave protein için ağırlık artışı}}{\text{Kazein diyetindeki her gram ilave protein için ağırlık artışı}} \right)$$

Kesrin payı = [Ekstra ağırlık artışı (gr) / Hayvan başına tüketilen yem] \times [100 / % ilave protein]

% ilave protein = [Test diyetinin analizle saptanan ham protein kapsamı] — [Kontrol grubunda analizle saptanan ham protein kapsamı] (12).

b) 1953'de Murlin ve çalışma arkadaşları proteinlerin biyolojik değerleri ile idrardaki kreatinin yüzdesi arasında yüksek bir korelasyon bulmuşlardır. Araştırmacılar, köpeklerde yaptıkları denemelerde biyolojik değerleri bu korelasyonlardan hesaplamışlardır (13, 22).

c) 1957 yılında, biyolojik değerle karaciğer enzimleri ve bilhassa ksantin oksidaz aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon tesbit eden Dju ve çalışma arkadaşları, bu korelasyonları biyolojik değerlerin hesabında kullanmışlardır (13).

LITERATÜR

1. Allison, J.B., 1955. *Physical Revs.*, 35: 664
2. Bender, A.E., D.S. Miller, 1953 *Bioch. J.*, 53: VII
3. Bender, A.E., D.S. Miller, 1953 *Bioch. J.*, 53: VII
4. Bender, A.E., B.H. Doell, 1957. *Brit. J. Nutr.*, 11: 140
5. Block, R.J., H.H. Mitchell, 1946. *Nutrition Abst. and Reviews*, 16: 249
6. Campbell, J.A., 1963. *Methodology of Protein Evaluation*. American University of Beirut. Division of Food Technology and Nutrition, Faculty of Agricultural Sciences. Publ. No. 21
7. Chapman, D.G., R. Castillo and J.A. Campbell, 1959. *Can. J. of Bioch. and Physiology*, 37: 679
8. De Mueleneare, H.J.H., G.V. Quicke and J.P.H. Wessels, 1960. *South African J. of Agr. Sci.* 3: 91
9. Derse, P.H., 1958. *J. of the A.O.A.C.*, 1: 192
10. Derse, P.H., 1960. *J. of the A.O.A.C.*, 43: 38
11. Derse, P.H., 1962. *J. of the A.O.A.C.*, 45: 418
12. Duckworth, J., A.A. Woodham and I. Mc. Donald, 1961. *J. Sci. Food Agric.*, 12: 407
13. El-Samman, S., 1961. *The Biological Value of Proteins in Mixed Grass Hays*. H. Veenman und Zonen N.V. Wageningen
14. Fisher, H., J.D. Summers, J.P.H. Wessels and R. Shapiro, 1962, *J. Sci. Food Agric.*, 13: 658
15. Frost, D.V., H.R. Sandy, 1946. *Arch. Biochem.*, 10: 51
16. Frost, D.V., H.R. Sandy, 1949, *J. Nutr.*, 39: 427
17. Henry, K.M., S.K. Kon, 1957, *Brit. J. Nutrition*, 11: 305
18. Maynard, L.A., J.K. Loosli, 1969. *Animal Nutrition*; Sixth Edition. Mc Graw-Hill Company, Inc., New York, St. Louis, San Francisco, London, Sidney, Toronto Mexico, Panama
19. Miller, D.S., A.E. Bender, 1955, *Brit. Nutr.*, 9: 382
20. Mitchell, H.H., 1924, *J. Biol. Chem.*, LVIII: 873
21. Mitchell, H.H., 1944. *Ind. Eng. Chem.*, (Anal. ed), 16: 696
22. Mitchell, H.H., 1964. *A Comparative Nutrition of Men and Domestic Animals*; Vol. II. Acedemic Press, New York and London
23. Oser, B.L., 1951. *J. Amer. Dietetic Assn.*, 27: 396
24. Summers, J.D., H. Fisher, 1960. *J. Nutr.*, 72: 153
25. Summers, J.D., H. Fisher, 1961, *J. Nutr.*, 75: 435
26. Werman, W.G., 1969. *Entwicklung und Erprobung Eines Biologischen Kurztests zur Futterbewertung Mittels Kucken*; *Doktora Tezi*
27. Wessels, J.P.H., H. Fisher, 1965. *Brit. J. Nutr.*, 19: 57