



Żelatyna i priony — ocena zagrożeń

Magdalena Fikus
Instytut Biochemii i Biofizyki
Polska Akademia Nauk
Warszawa

Żelatyna jest przemysłowym produktem wytwarzanym z tkanek zwierzęcych, a ściśle — z białka kolagenu. Żelatyna, jak czytamy w Indexie Mercka (1), w przyrodzie nie istnieje.

Kolageny, (ciężar cząsteczkowy ok. 70 kDa) stanowią do 25% masy wszystkich białek ssaków. Wykryto rodziny kilkudziesięciu różnych genów kodujących kolageny fibrylarne i niefibrylarne, występujące w postaci różnych kombinacji trzech łańcuchów polipeptydowych. Opisano kilkanaście typów kolagenu, najczęściej spotykany w skórze i kościach jest typ I. W pojedynczym łańcuchu polipeptydowym kolagenu nie występują wiązania wodorowe; pojawiają się one w pierwotnej, trójłańcuchowej lewoskrętnej helisie, wiążąc poszczególne reszty różnych łańcuchów. Bardzo szczegółna struktura przestrzenna kolagenu wynika z równie wyjątkowego składu aminokwasowego. Pierwotna helisa ma wymiary

$30 \times 1,5$ nm, na jeden jej skręt przypadają 3 aminokwasy — co trzeci to glicyna lub prolina albo hydroksyprolina, resztę stanowią inne aminokwasy. Brak w kolagenie tryptofanu, w nieznacznych ilościach występuje cysteina i cystyna, metionina, seryna, tyrozyna, histydyna. Z tego względu nie jest to białko pełnocenne pokarmowo dla człowieka (1). Komórki tkanki łącznej wydzielają kolagen do przestrzeni międzykomórkowej, tam też powstają kolejno skręcone helisy wyższego rzędu tworząc włókienka i włókna, pełniące rolę strukturalną (2).

Żelatyna jest mieszaniną polipeptydów o różnej długości, powstałych w wyniku częściowej hydrolizy kolagenu. Jest substancją bezbarwną, bez zapachu i smaku, w wodzie pęcznieje zwiększając pięciokrotnie objętość, a po podgrzaniu rozpuszcza się. Żelatyna jest także rozpuszczalna w glicerolu, kwasie octowym, nie jest natomiast w rozpuszczalnikach organicznych.

Żelatyna jest bardzo ważnym półproduktem w przemyśle spożywczym. Stosuje się ją jako dodatek białkowy, materiał nośnikowy, stabilizator, utrwalać smaku, środek emulgujący, pieniący, do usuwania osadów w toku produkcji napojów alkoholowych. Dodaje się ją do słonych i słodkich galaretek, lodów, niektórych margaryn, miękkich cukierków, bezów, czekoladowych ciastek, nadzienia ciastek i tortów, napojów i koktajli mlecznych, handlowej bitej śmietany, soków warzywnych, wędlin i konserw mięsnych. W przemyśle farmaceutycznym z żelatyny robi się kapsułki, niektóre pigułki, w formie gąbek stosuje się w opatrunkach, dodaje jako koloid pacjentom po dużej utracie krwi. Żelatyna obecna jest w produktach kosmetycznych i preparatach witaminowych.

Znalazła też szerokie zastosowania w produktach nie konsumowanych przez ludzi: w przemyśle fotochemicznym (filtry, błony, filmy fotograficzne), w przemyśle tekstylnym, drukarskim, przy produkcji zapalek i lamp rtęciowych, w analitycznych laboratoriach bakteriologicznych, medycznych i biochemicznych. Gdyby nagle zniknęła z rynku byłoby to trudne wyzwanie technologiczne.

Surowcami do otrzymywania żelatyny mogą być: skóra, kości, ścięgna, rogi, kopyta, włosy, pióra, części zrogowaciałe i skorupy zwierząt. Na świecie surowce te w 65% pochodzą z bydła, ponad 30% — ze świń. W Australii, Nowej Zelandii i Afryce Płd. korzysta się z surowca z owiec. W Europie przetwarza się rocznie 500 000 ton surowca w 100 000 ton żelatyny, 52% produkuje się z materiałów pochodzących z trzody chlewnej, 21% z bydlęcych kości, a 27% z bydlęcej skóry, całość stanowi 44% produkcji światowej. Zapotrzebowanie na żelatynę jest tak duże, że jedynym źródłem surowca nie mogą być młode zwierzęta lub zwierzęta żyjące na wolności.

Żelatyny pochodzące z różnych gatunków zwierząt mogą być w sprzyjających przypadkach rozróżniane metodami fizykochemicznymi. Na przykład żelatyny: bydlęca, wieprzowa i rybna różnią się punktami izoelektrycznymi. W takim punkcie drastycznie zmieniają się niektóre parametry żelatyny, np. lepkość jej roztworu. Sądzę, że obie te cechy mogłyby być wykorzystane w opracowaniu rutynowych metod analizy kontroli źródła pochodzenia żelatyny.

W skrócie, proces technologiczny otrzymywania żelatyny rozpoczyna się od rozdrobnienia materiału biologicznego i potraktowania go wodą w 85°C ,

a następnie wysuszenia w temperaturze powyżej 100°C, co skutkuje usunięciem tłuszczów i większości białek, w tym 98% białek tkanki nerwowej, o ile takowa znalazła się w surowcu. Przez 4 do 5 dni uzyskany materiał stopniowo zakwasza się kwasem solnym, aż do osiągnięcia jego 4% stężenia i przetrzymuje w tych warunkach przez dwa dni. W przypadku surowca z bydła po zobojętnieniu dodaje się na 45 dni wodorotlenek wapnia do stanu nasycenia (pH 12,5), zobojętnia, przemywa wodą w 50°C, sączy kolejno przez kationit i anionit, zagęszcza i sterylizuje przez 4 s w 140°C. Po zakrzepnięciu — rozdrabnia i nadaje formę handlową (proszek, płatki, granulki itp.).

Nic dziwnego, że kiedy w Wielkiej Brytanii rozwinęła się epidemia gąbczastej encefalopatii bydła (BSE), Europejskie Zjednoczenie Wytwórców Żelatyny zleciło szkockiej firmie INVERESK ekspertyzę dotyczącą możliwości przetrwania przez zakaźne priony wymienionych warunków technologicznej obróbki kolagenu.

Badania te trwały ponad dwa lata. Oznaczano umowne jednostki zakaźności prionów myszy poddanych dwóm, podstawowym procedurom stosowanym przy produkcji żelatyny: przetrzymywaniu w 4% kwasie solnym przez dwie doby i w nasyconym roztworze wodorotlenku wapnia przez 6 tygodni. Stopień zakaźności mierzono wstrzykując preparat do mózgów myszy, czekając na rozwój objawów choroby. Po wystąpieniu objawów klinicznych myszy zabijano i analizowano ich mózgi.

We wszystkich doświadczeniach obie procedury jedynie obniżały, ale nie likwidowały, zakaźnego potencjału prionów: w kwasie ponad 100-krotnie, w ługu 1000-krotnie. W dalszych podobnych testach wykazano, że nawet dziesięciokrotne zwiększenie stężenia kwasu, dwudziestokrotne — ługu i temperatury suszenia powyżej 220°C, nie likwidują całkowicie infekcyjności białka prionowego (3). Inaczej mówiąc procedury technologiczne obróbki surowca w trakcie uzyskiwania żelatyny nie gwarantują eliminacji zakaźnych prionów, o ile są one obecne w tym surowcu (4). Zapewne są, ponieważ nieprawidłowe priony odkryto u chorych ludzi i zwierząt w ich krwi, płynach ciała, szpiku kości (5,6).

Niestety nie ma wiarygodnych informacji co do wielkości minimalnej zakaźnej dawki; zwierzęta pochodzące z uboju spożywczego są zbyt młode, aby mogły wykazywać objawy choroby (traktować je należy zatem jako zdrowe), a co najważniejsze — nie opracowano dotąd bardzo czulej i wiarygodnej metody przyżyciowej oceny obecności czynnika infekcyjnego w zwierzęciu.

Zagrożenie zakaźnymi prionami związane jest zatem przede wszystkim ze źródłem użytego do produkcji surowca.

Oficjalne stanowisko Wspólnoty Europejskiej w sprawie bezpieczeństwa konsumentów żelatyny wypracowywały różnorodne Komisje (ich nazwy podam w oryginalnym brzmieniu).

9 kwietnia 1996 r. *Scientific Veterinary Committee* zalecił niestosowanie do produkcji żelatyny surowca pochodzącego od zwierząt zakażonych BSE.

15 kwietnia 1996 r. *Scientific Committee for Food* zabronił używania do produkcji żelatyny spożywczej i leczniczej jakiegokolwiek bydłowego surowca pochodzącego z krajów objętych epidemią BSE.

16 kwietnia 1996 r. *Committee for Proprietary Medicinal Products* poparł tę opinię zalecając dodatkowo pomiary zakaźności surowca.

3 kwietnia 1997 r. *Multidisciplinary Scientific Committee* stwierdził, że nie jest znany żaden sposób produkcji „bezpiecznej” żelatyny, jeżeli surowiec skażony był przez priony. Komitet zalecał intensyfikację badań prowadzących do czulej, szybkiej, taniej, pewnej i prostej metody oznaczania infekcyjności materiału biologicznego.

W roku 1996 ukazał się opis metody oznaczania w płynie mózgowo-rdzeniowym, z wiernością 95%, metodą radioimmunologiczną, białka oznaczonego 14-3-3, charakterystycznego dla pacjentów wykazujących objawy kliniczne CJD (choroby Creutzfelda-Jakoba) (7). W roku 1997 doniesiono o otrzymaniu przeciwciał monoklonalnych rozróżniających patologiczne priony od normalnych, z kilku różnych gatunków (8). Obie propozycje metod wymagają dalszego dopracowania i nie spełniają sformułowanych kryteriów testu niezawodnego, prostego i taniego.

Wreszcie jako podsumowanie tych decyzji, 30 lipca 1997 r. *European Commission* zaleciła niedopuszczanie do importu do krajów Unii kości kręgosłupa i skóry bydła, owiec i kóz jako surowca do produkcji żelatyny do celów kosmetycznych, farmaceutycznych i spożywczych, zabroniła używania mózgów, czaszek, węzłów chłonnych, długich kości, jako dodatków do produktów spożywczych. Zabroniono także produkcji spożywczych dodatków z nie rozpoznanego surowca.

27 marca 1998 r. *Scientific Steering Committee* podsumowując te decyzje postanowił sformułować ostateczne zalecenia w sprawie zakaźnych właściwości żelatyny (9). Przewiduje się podział krajów dostarczających surowiec na wysokiego, niskiego, nieistotnego ryzyka i nie rozpoznane. Autorzy zaleceń zwracają uwagę, że podział ten nie jest bezwzględny, ponieważ nie istnieją w pełni wiarygodne dane, co do występowania przypadków pojedynczych zachorowań zwierząt na choroby prionowe: mogą one nie być rozpoznane, albo rozpoznanie może nie być ogłoszone. Kolejny cios zadano wykazując, że zakaźne priony mogą przechować się w tkankach zwierząt, o których dotychczas sądzono, że nie chorują na takie choroby (10). Nic zatem nie upoważnia do twierdzenia z całkowitą pewnością, że np. kurczaki karmione paszą, do której dodano bydłecze odpady przemysłowe, nie przechowują w swoich tkankach bydłeczych prionów.

W roku 1996 *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* oraz Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), zaleciły powstrzymanie się od importu surowca do produkcji spożywczej żelatyny z Wielkiej Brytanii oraz testowanie wszelkiego surowca pod kątem obecności zakaźnych prionów. Podobne reguły sformułowano w kwietniu 1997 r. w *Food and Drug Administration* (USA), zalecając stosowanie w przemyśle spożywczym żelatyny wyprodukowanej z materiału pochodzącego z trzody chlewnej i ryb.

Problem bezpieczeństwa konsumpcyjnego żelatyny nie został zamknięty. Na przeszkodzie stoi brak odpowiedniej metody testowania obecności prionów. Przekornie — za utrudnienie uznałabym także brak powszechnej zgody na to, że hipoteza S. Prusiner'a *protein only* została bez wątpliwości udowodniona.

Literatura

1. Merck Index, (1989), XI Ed.
2. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D., (1983), in: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publ. Inc., New York, London.
3. Taylor D. M., Fernie K., (1996), *J. Gen. Virol.*, 77, 811-813.
4. Heynke R., (1996) *Terapiewoche*, 46, 1618-1620.
5. Pattison I. H., Millson G. C., (1962), *J. Comp. Pathol. Therap.*, 72, 233-244.
6. Tamai Y., Kojima H., Kitajima R., Taguchi F., Ohtani Y., Kawaguchi T., Miura S., Sato M., Ishihara Y., (1992), *N.E.J.M.*, 327, 649.
7. Hsich G., Kenney K., Gibbs C. J., Lee K. H., Harrington M. G., (1996), *N.E.J.M.*, 335, 924-930.
8. Korth C., Stierli B., Streit P., Moser M., Schaller O., Fischer R., Schulz-Schaeffers W., Kretzschmars, Raeber A., Braun U., Ehrensperger F., Hornemann S., Glockshuler R., Riek R., Biller M., Wüthrich K., Oesch B., (1997), *Nature*, 390, 74-77.
9. Opinion on the Safety of Gelatine, (1998), Adopted at the Scientific Steering Committee at its plenary meeting (of 26-27 March) <http://www.europa.eu.int/en/comm/spc/scientif/ncommo/outcome.html>
10. Race R., Chesebro B., (1998), *Nature*, 392, 770.

Gelatine and prions — evaluation of consumers safety

Summary

Gelatine is defined as a mixture of polypeptides obtained by partial non-enzymatic hydrolysis of collagen contained in bones and skins mainly bovines and/or pigs after the following treatments: degreasing, acid treatment, and/or alkaline treatment, washing, filtration, ion exchange and sterilization. Gelatine is produced for consumption and industrial purposes, and it is widely used as a component of various products.

Scrapie and BSE are extremely resistant to various physical and chemical treatments. The gelatine can only be produced safely from healthy animals. European Community as well as FDA in the USA have paid close attention to this problem and issued special reports and rules on that matter.

Key words:

collagen, gelatine, prion, safety.

Adres do korespondencji:

M. Fikus, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa.