

**Mgr inż. Monika Pliszka**

## **Streszczenie**

Charakterystyka i identyfikacja biologicznie aktywnych produktów hydrolizy białek owsa (*Avena sativa* L.) w aspekcie profilaktycznego działania w chorobach zespołu metabolicznego

Celem badań prezentowanych w niniejszej pracy była charakterystyka molekularna hydrolizatów i peptydów z białek ziarniaków owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) oraz ich aktywności biologicznych, ważnych z punktu widzenia profilaktyki zespołu metabolicznego, oznaczonych z wykorzystaniem metody *ex vivo* w badaniach wstępnych oraz układu hybrydowego tj. połączonych metod *in silico* i *in vitro*. Wykorzystując ujednoliconą metodę trawienia *in vitro*, symulującą procesy trawienne zachodzące w przewodzie pokarmowym człowieka, opracowaną w ramach międzynarodowej sieci naukowej INFOGEST przeprowadzono trawienie *in vitro* białek ziarniaków owsa. W pracy wykorzystano nową, zintegrowaną strategię badawczą w celu zidentyfikowania i charakterystyki właściwości białek ziarniaków owsa, które wykraczają poza ich funkcje odżywcze, w aspekcie działań profilaktycznych w zespole metabolicznym.

Na etapie badań wstępnych przeprowadzono ekstrakcję białek z ziarniaków owsa a następnie poddano je trawieniu *ex vivo* z wykorzystaniem ludzkich soków trawiennych, wyizolowanych od ochotników. Hydrolizaty białek ziarniaków owsa wykazywały aktywność hamowania enzymu konwertującego angiotensynę I. Etap badań *in silico* umożliwił zidentyfikowanie w sekwencjach aminokwasowych białek owsa, peptydów o aktywności inhibitorów enzymów dipeptydylopeptydazy IV (DPP-IV) i konwertazy angiotensyny I (ACE) oraz aktywności przeciwutleniającej, a także pozwoliły na wykrycie możliwości ich uwolnienia w trakcie hydrolizy z użyciem pepsyny, trypsyny i chymotrypsyny. Na podstawie otrzymanych wyników analizy bioinformatycznej stwierdzono, że wybrane białka ziarniaków owsa mogą być potencjalnym źródłem peptydów o aktywności hamowania działania DPP-IV i ACE oraz aktywności przeciwutleniającej, które mogą być uwalniane podczas trawienia *in silico*.

Kolejnym etapem badań było przeprowadzenie trawienia *in vitro* z wykorzystaniem komercyjnych preparatów enzymatycznych, tj. pepsyny i Corolase PP. Na podstawie protokołu INFOGEST, ekstrakt poddano symulowanemu trawieniu w „układzie pokarmowym” człowieka, składającego się z trzech etapów: „żucia” – 3 minuty; „żołądkowego” - 2 godziny

przy pH 3,0 i „żołądkowo-jelitowego” – 2 godziny przy pH 7,0. W otrzymanych hydrolizatach oznaczono zawartość białka niezhydrolizowanego, a następnie rozdzielano je i analizowano z wykorzystaniem metod SDS-PAGE, 2D-PAGE, RP-HPLC. Kolejno oznaczono aktywności hamowania dipeptydylopetydazy IV,  $\alpha$ -glukozydazy, konwertazy angiotensyny I oraz aktywność przeciwutleniającą poprzez zdolność do wymiatania wolnych rodników DPPH i ABTS, pomiar siły redukownaia jonów żelaza, zdolność redukcji stopnia utlenienia jonów żelaza oraz zdolność do chelatowania jonów żelaza. Do identyfikowania peptydów w hydrolizatach wykorzystano spektrometrię mas (LC-MS/MS). Hydrolizaty białek ziarniaków owsa wykazywały aktywność hamowania DPP-IV,  $\alpha$ -glukozydazy, ACE i aktywność przeciwutleniającą. Stwierdzono wzrost aktywności hamowania wobec ACE podczas trawienia *ex vivo* i *in vitro* a dodatkowo wobec DPP-IV,  $\alpha$ -glukozydazy oraz aktywności przeciwutleniającej podczas wszystkich etapów trawienia *in vitro*. Zastosowane metody LC-MS/MS w celu identyfikacji peptydów okazały się efektywne i pozwoliły na zidentyfikowanie łącznie 21 peptydów o aktywności hamowania DPP-IV i ACE oraz aktywności przeciwutleniającej.

Zastosowany układ hybrydowy badań wraz z etapem *ex vivo* umożliwił zidentyfikowanie i charakterystykę produktów proteolizy białek ziarniaków owsa w aspekcie potencjalnych możliwości ich wykorzystania w profilaktyce zespołu metabolicznego. Zintegrowana strategia badawcza obejmująca połączenie metod *in silico* oraz *in vitro* może być wykorzystana w badaniu białek pochodzących z ziarniaków owsa, wspomagających działanie prewencyjne wobec zespołu metabolicznego.

Data sporządzenia: 2019-08-30