

Monika Hrynkiewicz

Streszczenie pracy doktorskiej (język polski)

Peptydy pochodzące z białek żywności wykazują wiele aktywności biologicznych m. in. obniżają ciśnienie krwi, przeciwdziałają tworzeniu zakrzepów, regulują poziom glukozy, działają antyoksydacyjnie, antybakteryjnie etc. Oprócz właściwości biologicznych, peptydy kształtują wszystkie wrażenia smakowe żywności, tj. gorzki, słony, słodki, kwaśny oraz umami. Peptydy naturalnie występujące w białkach oraz ich hydrolizatach najczęściej charakteryzują się smakiem gorzkim.

Celem głównym pracy było badanie zależności między strukturą (tj. sekwencją aminokwasową) peptydów pochodzących z białek żywności, a ich gorzkim smakiem za pomocą wybranych metod *in silico* oraz weryfikacja uzyskanych wyników w układzie *in vitro*. Do badań zastosowano następujące metody *in silico*: analizę składowych głównych (PCA), liniową regresję wieloraką oraz komputerową symulację hydrolizy białek. Dwie pierwsze zaliczamy do metod analizy chemometrycznej. Sekwencje peptydów gorzkich zaimplementowano z bazy danych BIOPEP. Badania wykonano dla populacji 51 dipeptydów, 51 tripeptydów oraz 23 tetrapeptydów.

Za pomocą analizy składowych głównych wykazano, że następujące główne właściwości fizykochemiczne decydowały o smaku gorzkim dipeptydów: masa cząsteczkowa, tęgosc, liczba atomów węgla i wodoru, polarność, hydrofobowość (aminokwas N- i C-końcowy). Atrybutami wpływającymi na gorzki smak tripeptydów były: masa cząsteczkowa, tęgosc (aminokwas C-końcowy oraz środkowy) oraz masa cząsteczkowa, tęgosc i skłonność reszty aminokwasowej do odsłonięcia dla rozpuszczalnika (aminokwas N-końcowy). Głównymi właściwościami fizykochemicznymi wpływającymi na gorzki smak tetrapeptydów były: polarność oraz hydrofobowość (aminokwas N-końcowy), tęgosc i hydrofobowość (aminokwas C-końcowy). Na smak gorzki tetrapeptydów wpływała tęgosc oraz masa cząsteczkowa aminokwasów usytuowanych w pozycjach 2-3 łańcucha peptydowego. Wykazano, że typowy peptyd gorzki powinien charakteryzować się obecnością N- lub C-końcowej izoleucyny, waliny, czy fenyloalaniny. Z kolei typowe aminokwasy tripeptydów gorzkich to: prolina, glicyna oraz leucyna (aminokwas N- lub C-końcowy) lub motyw „GG” intensyfikujący smak gorzki tripeptydu w sekwencji o budowie XGG. Tetrapeptydy gorzkie powinny w swojej budowie zawierać aminokwasy pierścieniowe, zwłaszcza fenyloalaninę, prolinę oraz posiadające hydrofobowe łańcuchy boczne (np. glicynę). Powinny być one

ulożone w pozycjach 2. lub 3. tetrapeptydu. Wymienione prawidłowości otrzymano analizując wyniki uzyskane za pomocą zarówno PCA, jak i liniowej regresji wielorakiej, a model „gorzki smak peptydów vs. R_{caf} ” uznano za najtrafniej wyjaśniający badaną zależność. Liniowa regresja wieloraka pozwoliła na wytypowanie di-/tri-/tetrapeptydowych indykatorów smaku gorzkiego (inaczej indykatorów goryczki). Otrzymano ich odpowiednio 17, 12 oraz 7.

Spośród 77 sekwencji białek żywności reprezentujących podstawowe białkowe źródła pożywienia, do hydrolizy *in silico* (BIOPEP) wytypowano białka mleka oraz soi. Poddano je hydrolizie kilkunastoma enzymami w układzie „jeden substrat (sekwencja):jeden enzym”. Enzymy: papaina, bromelaina, ficyna i proteinaza K uwalniały z białek mleka oraz soi potencjalnie najwięcej peptydów, w tym zawierających indykatory goryczki. Otrzymane wyniki hydrolizy *in silico* białek mleka oraz soi były podstawą do wykonania hydrolizy *in vitro* tych białek i przeprowadzenia identyfikacji peptydów w próbkach hydrolizatów za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS).

Identyfikacja peptydów pochodzących z hydrolizatów białek mleka oraz soi wykazała różnice między wynikami hydrolizy *in silico* a *in vitro* w kontekście liczby uwolnionych peptydów. Zidentyfikowano 28 peptydów w próbkach wszystkich hydrolizatów białek mleka oraz 10 w próbkach hydrolizatów białek soi (łącznie 38) na ogółem 342 peptydów uzyskanych w warunkach *in silico* (227 peptydów pochodzących z hydrolizatów białek mleka oraz 115 z hydrolizatów białek soi). Najbardziej efektywnym enzymem w układzie *in silico* okazała się bromelaina, a najmniej proteinaza K. W układzie *in vitro* była to odpowiednio ficyna i proteinaza K. Stopień zgodności (porównywalności) wyników uzyskanych w układach *in silico* oraz *in vitro* wynosił ~11%. Mimo rozbieżności wyników otrzymanych w warunkach *in silico* oraz *in vitro*, szczególnie badania nad „strukturą a gorzkim smakiem peptydów” stanowią cenny wkład wiedzy dla naukowców oraz producentów żywności rozpatrujących żywność również w kategoriach atrakcyjności dla konsumenta. Rezultaty badań *in silico* dotyczące peptydów smakowych mogą wspomagać analizę sensoryczną żywności i jej składników pod warunkiem właściwego doboru metody chemometrycznej, jakości zastosowanych danych oraz konstrukcji modelu predykcji.