

*Marta Siergiejuk, Michał Chlabicz, Anna Worowska, Radosław Łapiński*

## AKTYWNOŚĆ PEPTYDAZOWA, ANTYPEPSYNOWA I ANTYTRYPSYNOWA NASION ROŚLIN SPOŻYWANYCH W STANIE SUROWYM PRZEZ CZŁOWIEKA

Klinika Chirurgii Naczyń i Transplantacji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. med. *M. Gacko*

*Ekstrakty z nasion dyni, groszku, maku i słonecznika wykazują aktywność peptydazową w kwasowym i w zasadowym pH. Równocześnie wykazują działanie przeciwne – hamują aktywność pepsyny i aktywność trypsyny. Zakwaszenie ekstraktów nie obniża aktywności peptydaz kwasowych, a alkalizacja ekstraktów nie obniża aktywności peptydaz zasadowych. Ogrzewanie ekstraktów w temperaturze 100°C inaktywuje peptydazy działające w kwasowym i zasadowym pH lecz nie wpływa w stopniu znaczącym na działanie substancji hamujących aktywność pepsyny i aktywność trypsyny.*

Hasła kluczowe: nasiona spożywane w stanie surowym, peptydazy kwasowe, peptydazy zasadowe, inaktywacja pepsyny, inaktywacja trypsyny.

Key words: raw seeds consumed, acid peptidases, alkaline peptidases, pepsin inactivation, trypsin inactivation.

Hamujący wpływ ekstraktów z nasion wielu gatunków roślin na aktywność peptydaz przewodu pokarmowego wykazało wielu autorów (1-4). Stwierdzono ich hamujący wpływ na aktywność peptydaz zawartych w preparacie Citropepsin (5) oraz w preparatach Kreon, Penzakrat i Neo-Pancreatin (6).

Człowiek spożywa w stanie surowym tylko nasiona dyni, groszku, maku i słonecznika. Zawarte w ekstraktach z tych nasion substancje niepoddawane są działaniu wysokiej temperatury przed spożyciem. Jedynie nasiona groszku i maku są spożywane zarówno w stanie surowym jak i po ugotowaniu. Substancje zawarte w nasionach tych roślin poddawane są działaniu kwasowego pH soku żołądkowego i działaniu pepsyny oraz zasadowego pH soku trzustkowego i działaniu trypsyny.

Celem pracy jest określenie aktywności peptydazowej oraz antypepsynowej i antytrypsynowej 10% ekstraktów z nasion dyni, groszku, maku i słoneczka oraz wpływ na te aktywności zakwaszenia (pH 1,5), alkalizacji (pH 8,6) i ogrzewania w temperaturze 100°C w ciągu 1 godziny.

## MATERIAŁ I METODY

Nasiona dyni (*Curcubita maxima*), groszku zielonego (*Pisum sativum*), maku (*Papaver somniferum*) i słonecznika (*Heliantus napus*) pozbawiano łupiny, rozdrabniano w młynku mechanicznym i sporządzano 10% ekstrakt w 0,15 mol/l NaCl. Ekstrakcję prowadzono w temperaturze laboratoryjnej w ciągu 2 godzin, stosując ciągłe mieszanie. Otrzymane przez wirowanie (1500 x g, 20°C, 30 minut), płyny nadosadowe użyto do badań. Posłużono się ekstraktami natywnymi, zakwaszonymi do pH 1,5 przy użyciu 0,1 mol/l HCl i alkalizowanymi do pH 8,5 przy użyciu 0,1 mol/l NaOH, oraz poddanych działaniu pepsyny (0,5 mg/ml ekstraktu, pH 1,5) i działaniu trypsyny (0,25 mg/ml ekstraktu, pH 8,5) przez 1 godzinę w temperaturze 37°C oraz ogrzewanymi w temperaturze 100°C przez 1 godzinę.

Globina wołu, odczynnik *Bradforda*, pepsyna i trypsyna Sigma, USA; odczynnik *Folina* i *Ciocalteu* Merck, Niemcy; bufor *Brittona* i *Robinsona* o pH 1,5 i 8,5.

Pomiaru pH dokonano za pomocą pehametru Elmetron CPI-501, Polska. Białko oznaczono metodą *Bradforda*. W celu oznaczenia aktywności peptydazowej do 0,2 ml ekstraktu o pH 1,5 i pH 8,5 dodawano 0,3 ml globiny o takim samym pH inkubowano 1 godzinę w temperaturze 37°C. Reakcję przerywano przez dodanie 0,5 ml 10% kwasu trichlorooctowego. W klarownym płynie nadosadowym oznaczano tyrozynę kwasorozpuszczalną przy użyciu odczynnika *Folina* i *Ciocalteu* w modyfikacji miedziowej. W celu określenia wpływu zakwaszenia (pH 1,5) i trawienia w tym pH pepsyną, alkalizacji (pH 8,5) i trawienia w tym pH trypsyną oraz inaktywacji termicznej (100°C) do 0,2 ml próbek dodawano 0,003 ml globiny i inkubowano 1 godzinę w temperaturze 37°C. Reakcję przerywano przez dodanie 0,5 ml 10% kwasu trichlorooctowego i w klarownym płynie nadosadowym oznaczano zawartość tyrozyny kwasorozpuszczalnej.

Wartości średnie z trzech oznaczeń zamieszczono w tabeli I i w tabeli II.

Tabela I. Wartość pH i stężenie białka, aktywność peptydaz w tym pH przy użyciu globiny, ekstraktów z nasion spożywanym w stanie surowym

Table I. pH value, protein concentration and activity of peptidases of raw seed extracts

Oznaczenie	Ekstrakt z nasion			
	dynia	groszek	mak	słonecznik
pH	6,26	5,92	4,68	5,96
Aktywność peptydaz, Tyr nmol/ml/h	1,86	1,81	2,42	2,2
Białko, mg/ml	10,8	32,2	242	68,8

Tabela II. Wpływ zakwaszenia (pH 1,5), alkalizacji (pH 8,5) i ogrzewania (100°C) w ciągu 1 godziny na aktywność peptydazową ekstraktów mierzoną w pH 1,5 i pH 8,5 oraz hamowanie aktywności pepsyny i trypsyny przez ekstrakty z nasion

Table II. Influence of acidification (pH 1.5), alkalization (pH 8.5) and heating (100°C) on peptidasic activity of extracts measured in pH 1.5 and pH 8.5 and inhibition of pepsin and trypsin activity by these extracts

Ekstrakt z nasion	Aktywność peptydazowa		Hamowanie aktywności	
	pH 1,5	pH 8,5	pepsyny*	trypsyny **
	Tyr nmol/ml/1h			
Dynia				
natywny	12,1	5,0	112,6	94,8
zakwaszony	10,8	2,8	110,0	86,0
alkaliczny	8,4	4,6	108,0	88,6
ogrzewany	0,0	0,0	128,0	110,0
Groszek				
natywny	3,8	34,0	168,4	122,0
zakwaszony	3,4	13,0	158,6	120,0
alkaliczny	2,8	28,8	163,2	123,6
ogrzewany	0,0	0,0	170,8	120,8
Mak				
natywny	0,6	70,8	173,2	140,8
zakwaszony	0,9	26,4	170,4	138,0
alkaliczny	0,4	68,0	171,3	141,0
ogrzewany	0,0	0,0	172,0	140,0
Słonecznika				
natywny	9,0	8,6	34,8	52,0
zakwaszony	8,4	2,6	34,0	48,0
alkaliczny	6,4	8,6	30,2	56,0
ogrzewany	0,0	0,0	33,6	62,0

\* - aktywność pepsyny w kontroli /bez ekstraktów z nasion/ wynosiła 178,2 Tyr nmol/ml/1h

\*\* - aktywność trypsyny w kontroli /bez ekstraktów z nasion wynosiła 174,0 Tyr nmol/ml/ 1h

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ekstrakty z nasion dyni, groszku, maku i słonecznika posiadają pH słabo kwasowe (pH od 4,68 do 6,26), wykazują w tym pH niewielką aktywność peptydazową (od 10,8 do 242,0 Tyr nmol/ml/1h) oraz zawierają białka (od 1,86 do 2,42 mg/ml) (tab. I).

Inkubacja ekstraktów z nasion w pH 1,5 w ciągu 1 godziny nie obniża działających w tym pH peptydaz, ale obniża nieznacznie aktywność peptydaz działających w pH 8,5 (tab. II). Natomiast inkubacja ekstraktów w pH 8,5 nie wpływa na aktywność zarówno peptydaz działających w pH 1,5 jak i pH 8,5. Ogrzewanie ekstraktów z nasion w temperaturze 100°C nie wpływa znacząco na wielkość tego obniżania aktywności. Ekstrakt z nasion groszku i maku nie zawiera substancji hamujących aktywność pepsyny, a wynik pomiaru aktywności jest sumą aktywności pepsyny i peptydaz nasion działających w pH 1,5. Ekstrakty wszystkich badanych nasion hamują aktywność trypsyny. Hamowanie aktywności tej

peptydazy jest największe przez ekstrakt nasion dyni i z nasion słonecznika, a mniejsze przez ekstrakt z nasion groszku i z nasion maku.

Peptydazy występujące w ekstraktach z nasion dyni, groszku, maku i słonecznika wykazują znaczną oporność na zakwaszenie i alkalizację. Ulegają natomiast inaktywacji termicznej. Biorąc pod uwagę działanie różnych czynników fizycznych (temperatura, pH) oraz występujących w nasionach przeciwstawne działanie czynników inaktywujących peptydazy – pepsynę i trypsynę – oraz peptydaz egzogennych występujących w nasionach dyni, grochu, maku i słonecznika można przypuszczać, że spożywanie w stanie surowym nasion dyni, grochu, maku i słonecznika przez osoby z prawidłowo funkcjonującym trawieniem pokarmów białkowych w przewodzie pokarmowym nie wpływa na trawienie białek pokarmowych.

Hamowanie aktywności pepsyny w soku żołądkowym i obniżenie aktywności peptydaz występujących w soku trzustkowym przez ekstrakty z nasion roślin spożywanych przez osoby z prawidłowo funkcjonującym systemem proteolitycznym przewodu pokarmowego, nie powoduje najprawdopodobniej upośledzenia trawienia pokarmów białkowych. Substancje te mogą upośledzić trawienie białek w bezsoczności żołądkowej i w niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki. Substancjami hamującymi aktywność peptydaz przewodu pokarmowego są specyficzne inhibitory peptydowe (7) oraz niespecyficzne inaktywatory polifenolowe (8).

M. Siergiejuk, M. Chlabicz, A. Worowska, R. Łapiński

#### PEPTIDASIC, ANTIPEPSINIC, AND ANTITRYPSIN ACTIVITIES OF RAW PLANT SEEDS CONSUMED BY HUMAN

##### Summary

Seed extracts from pumpkin, pea, poppy and sunflower show peptidasic activity in both the acid and alkaline pH. At the same time they show adverse activity – they inhibit both pepsin activity and trypsin activity. Extract acidification does not decrease acid peptidases and extract alkalization does not decrease alkaline peptidase activity. Heating extracts to 100°C inactivates peptidases in acid and in basic pH however but it does not significantly affect the activity of substances inhibiting both pepsin activity and trypsin activity.

##### PIŚMIENNICTWO

1. *Bańkowska A., Roszkowska-Jakimiec W., Worowski K.*: Inhibitors of pepsin, trypsin and chymotrypsin In seeds of plants consumer by humans and animals. Roczn. AM Białystok, 1998; 43: 278-286. - 2. *Billings P.C., Longnecker M.P., Keary M., Taylor P.R.*: Protease inhibitor content of human dietary samples. Nutr. Canc., 1990; 14: 85-93. - 3. *Leontowicz H., Kulasek G.*: Naturalne pokarmowe inhibitory enzymów trawiennych. Med. Wet., 1998; 54: 159-165. - 4. *Siergiejuk M., Bańkowska-Luksza A., Worowska A., Gacko M.*: Wpływ inhibitorów peptydaz nasion roślin spożywanych przez człowieka na aktywację prokarboksypeptydaz i aktywność karboksypeptydaz trzustkowych. Bromat. Chem. Toksykol., 2011; 44: w druku. - 5. *Jasielczuk J., Gacko M., Guzowski A., Karwowska A., Chojnacka-Zdrodowska A.*: Wpływ inhibitorów z nasion roślin spożywczych przez człowieka na aktywność

proteolityczną preparatu Citropepsin. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 37 (supl.): 353-355. - 6. *Bruzgo M., Gacko M., Guzowski A., Chlabicz M., Bańkowska A.*: Wpływ inhibitorów z nasion roślin spożywczych przez człowieka na aktywność proteaz preparatów stosowanych w substytucyjnym leczeniu niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005; 37 (supl.): 345-347. - 7. *Winiarska-Mieczan A.*: Inhibitory trypsyny z rodziny Bowmana-Birka – budowa oraz znaczenie w żywieniu ludzi i zwierząt. *Med. Wet.*, 2007; 63: 276-281. - 8. *Marita J.M., Hatfield R.D., Brink G.*: In vitro proteolytic inhibition, polyphenol oxidase activity, and soluble o-diphenols in grasses and cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 2010; 58: 959-966.

Adres: 15-276 Białystok, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A.