

## ABSTRAKT

Alergení proteiny v sóji představují významnou překážku pro její plné využití ve stravě lidí. Sójové boby jsou uvedeny na seznamu alergenů vydaném Evropskou Unií. Cílem příspěvku je poukázat na možnosti snížení imunoreaktivity proteinů rostlinného původu, konkrétně proteinů sóji luštinaté (*Glycine max*), přidavkem bioaktivních látek – kyselina gallová, kvercetin,  $\beta$ -karoten v různých koncentracích – 0;0,15;0,5;1,5 a 15 mg/g. Měření proběhlo na Ramanově spektrometru. Nejvyšších interakcí bylo zaznamenáno v případě koncentrace 0,15 a 1,5 mg/g. Přídavek kyseliny gallové a kvercetinu v koncentracích 0,15 a 1,5 mg/g se jeví jako nejvhodnější pro vazbu s proteiny sóji.

## MATERIÁL A METODIKA

Proteinový izolát sóji v laboratorní kvalitě (Kerry, Irsko) byl smíchán s extrakčním roztokem a byl podroben varu po dobu 10 minut za stálého míchání vzorku. Následovala filtrace přes 0,45  $\mu$ m filtr a ředění fosfátovým pufrém (PBS) na koncentraci 0,08  $\mu$ g/ml.

Bioaktivní látky – kys. gallovou (GAL), kvercetin (KVE) a  $\beta$ -karoten (KAR) byly připraveny v koncentracích 0;0,15;0,5;1,5;15 mg/g a smíchány s filtrátem proteinu v poměru 1:1. Nulová koncentrace byla připravena z filtrátu proteinu a destilované vody.

Roztoky byly rozpipetovány do skleněných vialek a podrobeny analýze pomocí Ramanova spektrometru (StellarNet, USA) - spektrální rozsah 200-2000  $\text{cm}^{-1}$ , síla laseru 90 %. Vzorky byly měřeny ve 4 opakováních ve dvou časových intervalech - bezprostředně po přípravě (0 hodin) a s odstupem 1 hodiny.

Statistické vyhodnocení výsledků bylo provedeno v softwaru Microsoft Office Excel – XLSTAT (Lumivero) diskriminační analýzou dat (DA) - level signifikance 5 %, práh vstupních hodnot  $>0,1$  a  $<0,9$ .

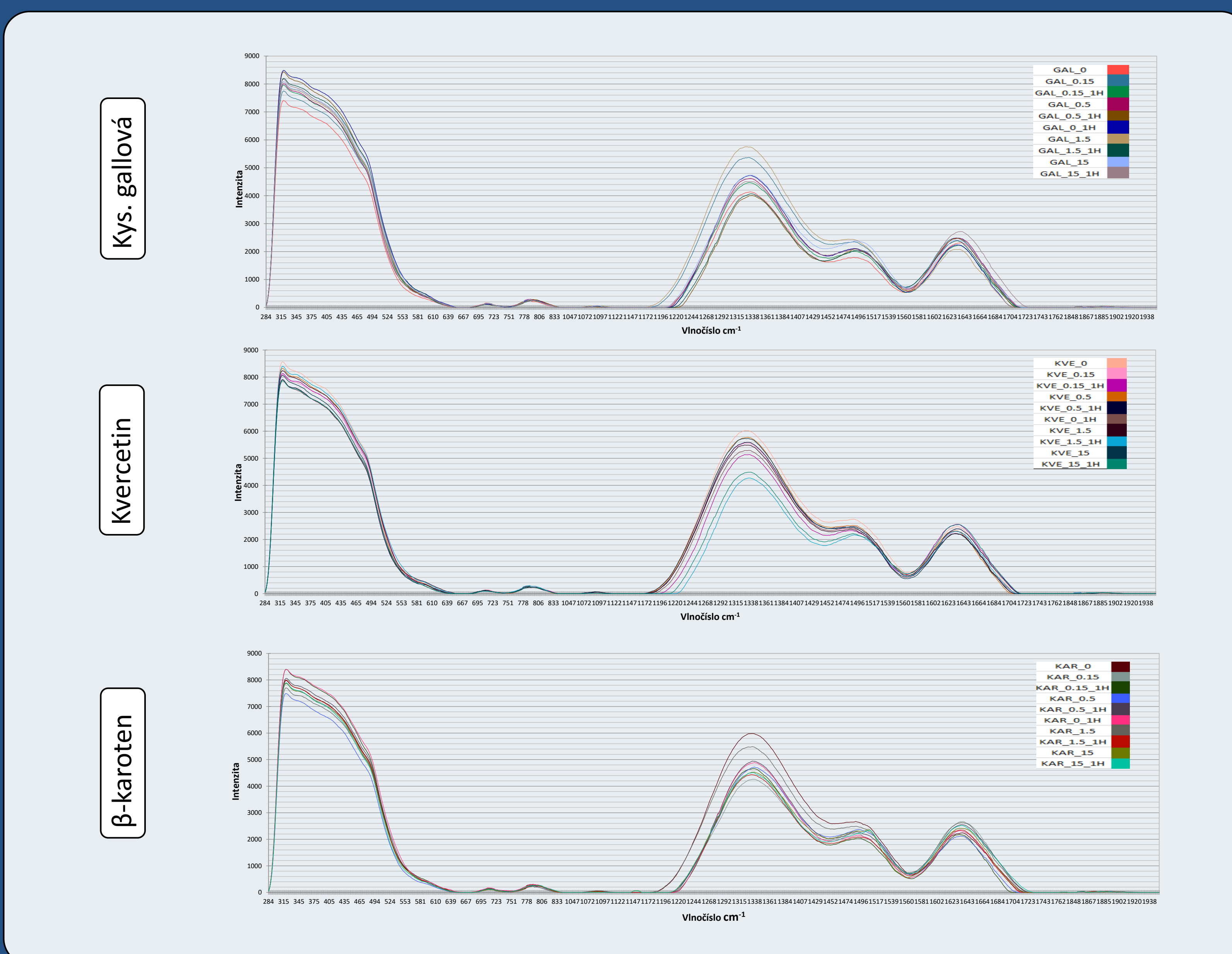
## VÝSLEDKY A DISKUZE

Přidavkem bioaktivních látek byly zaznamenány vazebné interakce mezi proteiny sóji luštinaté a bioaktivními látkami – kys. gallovou a kvercetinem. Tyto interakce se vyvíjely v závislosti na času inkubace (0 hodin a 1 hodina). U vzorků, které byly měřeny po 1 hodině bylo patrné navýšení intenzity Ramanova spektra. Nejvíce patrných změn lze pozorovat v případě bioaktivních látek, které ve své struktuře obsahují fenolové jádro (kys. gallová, kvercetin).

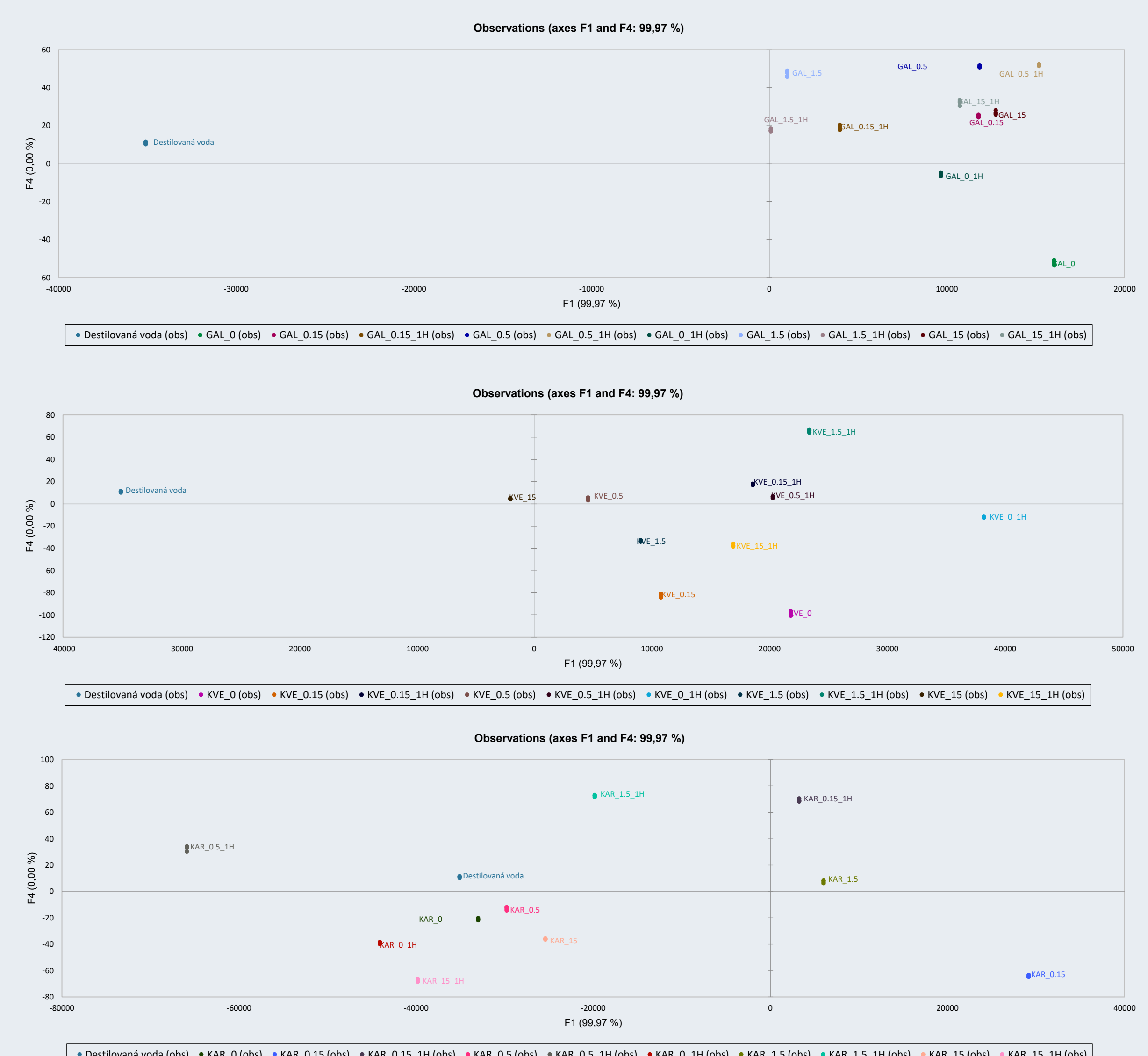
Ramanova spektra sójového proteinu (Obr 1) s přidavkem kyseliny gallové se pohybují v rozmezí vlnových čísel 1157 – 1756  $\text{cm}^{-1}$ . Významné navýšení intenzity bylo pozorováno při koncentraci 0,15 a 1,5 mg/g. Obdobných výsledků bylo zaznamenáno také v případě přídavku kvercetinu v rozmezí vlnových čísel 1163 – 1730  $\text{cm}^{-1}$ . Proteiny s fenolovým jádrem interagují v rozmezí vlnových čísel 1480-1730  $\text{cm}^{-1}$  (Kuhar et al., 2021). Tato rozmezí jsou charakteristická pro změny intenzity Ramanova spektra amidových vazeb I a II (Movasaghi et al., 2007). Záznam Ramanových spekter s přidavkem  $\beta$ -karotenu v rozmezí vlnových čísel 1172-1723  $\text{cm}^{-1}$  poukazuje na mírné změny intenzity při koncentraci 0,15 a 15 mg/g. Toto rozmezí je charakteristické pro C-C a C=C vazby, kdy karotenoidy mají vysoké zastoupení C=C vazeb (Harrison, 2022).

Diskriminační analýzou (Obr 2) byly potvrzeny pozitivní změny v interakcích proteinů sójových bobů a přítomností bioaktivních látek ve vzorcích ( $p < 0,05$ ). Největší rozdíly, v případě kys. gallové, byly zaznamenány v koncentraci 1,5 mg/g. Koncentrace 0,5 mg/g poukazuje na projev proteinu ve vztahu protein-kys. gallová (GAL). Na záznamu lze vidět rovněž blízké umístění kyseliny gallové v koncentraci 15 mg/g, které vytváří shluk, poukazující na projev samotné látky. Nejvíce patrné změny v případě kvercetinu (KVE) byly zaznamenány při koncentraci 1,5 mg/g a v případě  $\beta$ -karotenu (KAR) se jednalo o koncentraci 0,15 mg/g. Obecně nejnižší interakce jsou patrné při koncentracích 0,5 mg/g.

Obr 1: Změny intenzity Ramanova spektra



Obr 2: Diskriminační analýza Ramanova spektra



## ZÁVĚR

Z měření vyplývá, že nejreaktivnější bioaktivní látky s proteiny sóji jsou kyselina gallová a kvercetin v koncentraci 0,15 a 1,5 mg/g. Interakce s proteiny může být využita ke snížení imunoreaktivity sójových bobů. Ke změnám dochází v důsledku vzniku molekulárních interakcí alergenních proteinů a bioaktivních látek. Snížení imunoreaktivity má velký potenciál. Nicméně ve spojení s rostlinnými proteiny doposud není k dispozici dostatek odborných studií. Přesnější mechanismus a optimalizace vznikajících kovalentních polyfenol-protein interakcí zůstává předmětem dalších výzkumů.

### PODĚKOVÁNÍ:

Příspěvek byl podpořen projektem ITA VETUNI (2022ITA23).

### LITERATURA:

K dispozici u autora.

### KONTAKTNÍ ADRESA:

Mgr. Kateřina Křiřtofová, VETUNI Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav hygieny a technologie potravin rostlinného původu, Palackého tř.1946/1, 612 42 Brno, e-mail: h21281@vf.u.cz