

Justyna Borawska, Małgorzata Darewicz, Anna Iwaniak, Piotr Minkiewicz

BIOLOGICZNIE AKTYWNE PEPTYDY POCHODZĄCE Z BIAŁEK ŻYWNOŚCI JAKO CZYNNIKI PREWENCJI WYBRANYCH CHOROÓB DIETOZALEŻNYCH

Katedra Biochemii Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie
Kierownik: prof. dr hab. inż. *M. Darewicz*

Hasła kluczowe: białka żywności, biologicznie aktywne peptydy, peptydy przeciwnadciśnieniowe – inhibitory konwertazy angiotensyny, peptydy antyoksydacyjne.
Key words: food proteins, biologically active peptides, antihypertensive peptides – angiotensin I-converting enzyme inhibitors, antioxidative peptides.

Żywność i jej składniki odżywcze mają podstawowe znaczenie w prawidłowym funkcjonowaniu organizmu. W ostatnich latach na rynku produktów żywnościowych pojawił się i rozwija nowy jego segment obejmujący żywność funkcjonalną. Żywność funkcjonalna jest źródłem składników, które mogą regulować działanie np. układu immunologicznego, hormonalnego, nerwowego, krążenia czy pokarmowego (1). Oznacza to, że może być ona źródłem składników pokarmowych zabezpieczających prawidłowe fizjologiczne funkcjonowanie organizmu, jak również sprzyjających intensyfikacji aktywności psychicznej człowieka. Przyjmuje się również, że substancje te nazywane także bioaktywnymi komponentami mogą znaleźć zastosowanie w profilaktyce chorób dietozależnych. Do takich biologicznie aktywnych składników należą niektóre peptydy żywności. Coraz częściej podkreśla się konieczność poszukiwania nowych form działania profilaktycznego, a nawet terapeutycznego w celu wspomagania leczenia chorób dietozależnych poprzez m.in. modyfikowanie spożywanej diety jako źródła naturalnie występujących w żywności związków bioaktywnych. Dobór odpowiedniej diety wspomagającej leczenie farmakologiczne jest uzasadniony zwłaszcza wtedy, gdy działania profilaktyczne mają na celu zapobieganie takim chorobom dietozależnym, jak nadciśnienie tętnicze, choroby neurodegradacyjne czy nowotworowe.

Biologicznie aktywne peptydy

Bioaktywne peptydy mogą być uwolnione z białkowych prekursorów podczas: – hydrolizy enzymami trawiennymi w układzie pokarmowym człowieka, – procesów fermentacji dzięki aktywności proteolitycznej mikroorganizmów, – enzymatycznej hydrolizy *in vitro*. W celu otrzymania krótkich, funkcjonalnych peptydów z dużym sukcesem stosowano kombinację wyżej wymienionych metod. Biopeptydy mogą być także syntetyzowane chemicznie lub poprzez ekspresję odpowiednich genów (2).

Liczba sekwencji biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z białek żywności rośnie z każdym rokiem. Do tej pory zidentyfikowano je we wszystkich surowcach wykorzystywanych do produkcji żywności oraz w wielu produktach spożywczych, głównie w mleku i fermentowanych produktach mleczarskich (2, 3), surowcach i produktach roślinnych (4), mięsie (5), jajach (6) czy surowcach pochodzących z mórz (7). Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności zazwyczaj zbudowane są z 2 do 20 reszt aminokwasowych (8). Aktywność biologicznie aktywnych peptydów wykazywana w warunkach *in vitro*, nie zawsze przekłada się na efekty biologiczne *in vivo*. Wynika to z mechanizmów molekularnych absorpcji i transportu biopeptydów oraz ich podatności na hydrolizę do nieaktywnych fragmentów (9). Zasadnicze znaczenie dla efektu fizjologicznego ma zachowanie stabilnej, natywnej struktury peptydów podczas interakcji z docelowym receptorem. Udowodniono, że obecność prolina na C-końcu peptydu chroni go przed hydrolizą enzymatyczną w układzie pokarmowym i pośrednio wpływa na jego biodostępność (10). Przeprowadzono badania dotyczące mechanizmu transportu bioaktywnych peptydów z zastosowaniem linii komórkowej Caco-2. Wykazano, że peptydy przeciwnadciśnieniowe np. IF, AF, IPP i VPP zachowują stabilną strukturę podczas przenikania przez monowarstwę nabłonka. Stwierdzono, że efektywność transportu zależy od ładunku, masy cząsteczkowej oraz hydrofobowości peptydów (11). W badaniach z wykorzystaniem modelu zwierzęcego tj. szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem tętniczym (SHR), udowodniono, że dwa przeciwnadciśnieniowe tripeptydy IPP oraz VPP są wchłaniane z pożywienia w przewodzie pokarmowym, czego potwierdzeniem była ich obecność w aorcie brzusznej oraz obniżenie ciśnienia tętniczego krwi u badanych zwierząt (12).

Peptydy obniżające ciśnienie krwi – peptydowe inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę

Konwertaza angiotensyny I (ACE) [EC 3.4.15.1] nazywana inaczej enzymem konwertującym angiotensynę, hydrolazą peptydyldipeptydową czy dipeptydylokarboksypeptydazą, jest metaloegzopeptydazą cynkową o szerokiej specyficzności substratowej (13). ACE jest szeroko rozpowszechniona w tkankach i płynach ustrojowych ssaków. Mechanizm regulacji ciśnienia z udziałem konwertazy angiotensyny I odbywa się na drodze kilku szlaków biochemicznych w układach: renina [EC 3.4.22.15] – angiotensyna (RAS, ang. renin-angiotensin system), renina-chymaza [EC 3.4.21.39] (RCS, ang. renin-chymase system), kinina-tlenek azotu (KNOS, ang. kinin-nitric oxide system) oraz endopeptydaza obojętna zwana enkefalinazą [EC 3.4.24.11] (NEPS, ang. neutral endopeptidase system). Układ RAS jest uznawany za wiodący wśród systemów odpowiedzialnych za regulację ciśnienia krwi (13). Zgodnie ze szlakiem RAS nerki wydzielają enzym proteolityczny – reninę [EC 3.4.22.15], która przekształca obecne we krwi białko – angiotensynogen w dekapeptyd – angiotensynę I. Angiotensyna I jest przekształcana przez konwertazę angiotensyny w oktapeptyd – angiotensynę II, która m.in. silnie zwęża naczynia krwionośne, powodując wzrost ciśnienia tętniczego krwi. Inhibitory konwertazy angiotensyny są jednymi z najczęściej stosowanych farmaceutyków w leczeniu nadciśnienia. Na przestrzeni lat odkryto wiele inhibitorów ACE, w tym związki syntetyczne oraz peptydy po-

chodzące z hydrolizatów białek żywności (4, 13). Stosowanie syntetycznych leków wiąże się z szeregiem skutków ubocznych, m.in. z kaszlem, wysypkami skórnymi, niekontrolowanym spadkiem ciśnienia poniżej normy, utratą smaku, obrzękiem naczynioruchowym, zmniejszoną czynnością nerek oraz wadami płodu. Natomiast naturalne peptydy z żywności hamujące ACE nie wywołują wyżej wymienionych efektów ubocznych, ale nie są też tak aktywne jak leki syntetyczne.

Peptydy o aktywności inhibitora ACE stanowią najlepiej poznaną grupę biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z żywności. Są to zwykle inhibitory kompetencyjne, które przyłączają się do centrum aktywnego i zmieniając konformację enzymu uniemożliwiają powstanie aktywnego połączenia enzym-substrat (14). Chociaż zależność między strukturą, a funkcją dla peptydowych inhibitorów ACE nie jest nadal w pełni ustalona, wykazują one pewne wspólne cechy. Są bogate w aminokwasy hydrofobowe i odporne na działanie endopeptydaz przewodu pokarmowego oraz mogą stosunkowo łatwo przenikać ze światła jelita do układu krwionośnego (8). Zbudowane są zazwyczaj z 2 do 12 reszt aminokwasowych, choć zdarzają się sekwencje dłuższe (15). Badania nad strukturą inhibitorów ACE wykazały, że decydujące znaczenie mają trzy aminokwasy od C-końca peptydu, które zazwyczaj zawierają resztę aminokwasu hydrofobowego. *FitzGerald* i *Meisel* (16) zauważyli, że w pozycji C-końcowej mogą występować też reszty argininy lub lizyny, wnioskując, że dodatni ładunek tych reszt ma znaczenie dla aktywności peptydów.

Peptydy obniżające ciśnienie krwi – inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę pochodzące z białek żywności

Bogatym źródłem peptydów obniżających ciśnienie krwi są m. in. białka mleka (2, 9, 17). Obecność peptydów o aktywności przeciwnadciśnieniowej wykazano także m.in. w: hydrolizatach glutenu pszenicy, zeiny kukurydzy, białek ryżu, soi, gryki, kiełków pszenicy, fasoli zwyczajnej, fasoli Adzuki, rzepaku, czosnku, ziemniaków, cytochromu, hemoglobiny i białek osocza krwi, żelatyny, drożdży, mięsa wieprzowego i drobiowego, jaj oraz w algach, sake i osadzie drożdżowym po produkcji sake, rybach i owocach morza (4, 17, 18, 19, 20, 21, 22). Inhibitory ACE, które naturalnie występują w fermentowanych produktach mleczarskich oraz serach dojrzewających są często uznawane za „naturalną żywność funkcjonalną” (23). W przypadku serów, peptydy te powstają w wyniku procesów proteolitycznych zachodzących podczas ich dojrzewania. Przykładem inhibitorów ACE z sera są kazokininy zidentyfikowane w ekstrakcie wodnym sera Gouda, peptydy z sera Manchego, Cheddar czy Gamalost (24, 25). Peptydowe inhibitory ACE otrzymano także w wyniku hydrolizy enzymatycznej białek jaj. W badaniach na szczurach potwierdzono właściwości przeciwnadciśnieniowe owokininy 2–7 o sekwencji RADHPF z owoalbuminy jaja (26). Peptydy o aktywności inhibitorów konwertazy angiotensyny zidentyfikowano w hydrolizatach termolizynowych białek mięśni kurczaka. Sekwencje IKW, LAP i LKP obniżały rozkurczowe ciśnienie krwi u szczurów SHR (ang. *spontaneously hypertensive rats* – szczury ze spontanicznym nadciśnieniem) o odpowiednio 50, 40 i 75 mmHg po dożylnym podaniu dawki w ilości 10 mg peptydu/kg masy ciała (27). Przykładami peptydów obniżających ciśnienie krwi pochodzącymi z mięsa wieprzowego są miopeptydy np. MNPPK, ITTNP czy DAQEKLE (18, 24, 27). Efekt

działania niektórych z tych peptydów potwierdzono w badaniach na szczurach SHR (24). Surowce i produkty żywnościowe pochodzenia roślinnego także mogą być cennym źródłem peptydów o aktywności inhibitorów ACE. Badania wykazały, że podczas trawienia białek soi w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, powstawały peptydy o sekwencjach np. VLIVP, YLAGNQ, FF które wyraźnie hamowały działanie konwertazy angiotensyny (28). Obecność peptydów inhibitorów ACE potwierdzono również w szpinaku. Peptydy o sekwencjach MRW oraz MRWD obniżały ciśnienie krwi u szczurów SHR już po 2 h od podania im dawki odpowiednio 20 lub 30 mg peptydu/kg masy ciała (29).

Peptydy o aktywności inhibitorów konwertazy angiotensyny mają zastosowanie w produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków. Przykładami żywności funkcjonalnej zawierającej peptydowe inhibitory ACE są: fermentowane kwaśne mleko „Ameal-S” (Calpis Co, Ltd., Japonia), napój mleczny Evolus® (Holandia), hydrolizat białek serwatkowych “BioZate” (Davisco Foods International, Inc., USA), ekstrakt z mięsa kurczka “Brand’s Essence of Chicken” (BEC; Cerebos Pacific Ltd., Singapur), hydrolizat białek ryb PeptACE® Fish Peptides (Natural Factors Nutritional Products Ltd, Kanada) (15, 27).

Peptydy antyoksydacyjne

Stres oksydacyjny powstaje na skutek zaburzeń między produkcją wolnych rodników tlenowych, a zdolnością komórki do ich eliminacji (30). W skład naturalnego enzymatycznego systemu usuwania wolnych rodników wchodzi m.in.: dysmutaza ponadtlenkowa [EC 1.15.1.1], katalaza [EC 1.11.1.6] i peroksydaza glutationowa [EC 1.11.1.9]. Ich efektywne działanie jest uwarunkowane podażą w diecie mikroelementów, takich jak selen i mangan. Do antyoksydacyjnego systemu obrony organizmu należą także nieenzymatyczne antyoksydanty, takie jak: witaminy antyoksydacyjne, mikroelementy, koenzymy i kofaktory (31). Peptydy i hydrolizaty białkowe, przerywając łańcuch reakcji wolnorodnikowych, mogą obniżyć szybkość procesów oksydacji enzymatycznej (pod wpływem lipooksygenazy) i nieenzymatycznej (8). Wolne rodniki, prowadząc reakcje utleniania, są przyczyną uszkodzeń: kwasów nukleinowych (modyfikacja składu i konfiguracji), lipidów (np. peroksydacja lipoprotein osocza), kwasów tłuszczowych (np. peroksydacja kwasów tłuszczowych błon komórkowych) oraz białek (modyfikacja składu i konfiguracji reszt aminokwasowych). Wywołują także proces apoptozy komórek. W konsekwencji wolne rodniki są jednym z czynników etiologicznych wielu chorób cywilizacyjnych, w tym nowotworów, chorób układu krwionośnego, a także uważane są za jedną z przyczyn chorób neurodegradacyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona (32). Istnieje szereg doniesień naukowych wskazujących, że hydrolizaty białek żywności wykazują aktywność antyoksydacyjną. Są to m.in. hydrolizaty białek: mleka, pszenicy, soi, jaj, krewetek, ostroboka, kapeliny, makreli, śledzia, tuńczyka, soli czy mintaja (31). Chociaż niewiele badań poświęcono charakterystyce aktywności antyoksydacyjnej ściśle zdefiniowanych fragmentów białek, to pozwalają one na stwierdzenie, że peptydy antyoksydacyjne są na ogół zbudowane z 3 do 16 reszt aminokwasowych (31). Głównymi ich składnikami są reszty aminokwasowe histydyny lub tyrozyny, które w postaci wolnej także wykazują aktywność przeciwutleniającą. Podobne właściwości

mają też: metionina, lizyna, arginina, fenyloalanina i tryptofan (4). Zwykle peptydy antyoksydacyjne zawierają w pozycji N-końcowej reszty aminokwasów hydrofobowych (np. walina, leucyna), reszty proliny, histydyny, tyrozyny, a niektóre z nich zawierają reszty aminokwasów kwaśnych (33). Istnieje zależność między wartością średniej hydrofobowości peptydu a jego aktywnością antyoksydacyjną (33). Nie tylko sekwencja aminokwasowa ale też konfiguracja przestrzenna peptydu wpływa na jego właściwości antyoksydacyjne (34). Na przykład peptydy posiadające prolinę w pozycji N-końcowej bardziej efektywnie zapobiegają oksydacji kwasu linolowego niż peptydy posiadające prolinę w pozycji C-końcowej (35). Przykładem peptydu o właściwościach antyoksydacyjnych, który naturalnie występuje w stanie wolnym w mózgu, nerkach, żołądku, a przede wszystkim w mięśniach szkieletowych ssaków, ptaków i ryb, jest karnozyna zbudowana z β -alaniny i L-histydyny (8). Peptyd ten odpowiada za inaktywację wolnych rodników i produktów peroksydacji lipidów błon komórkowych, pełni funkcję ochronną wobec błon komórkowych, posiada właściwości buforujące i chelatujące jony metali dwuwartościowych oraz reguluje aktywność makrofagów (8).

Peptydy antyoksydacyjne pochodzące z białek żywności

Produkty mleczarskie były pierwszym źródłem, z którego wyizolowano peptydy o właściwościach antyoksydacyjnych. Aktywność taką wykazano dla kazeiny- β i peptydów z niej uwalnianych oraz kazeiny- α_{s1} (2). Udowodniono, że mechanizm antyoksydacyjnego działania peptydów pochodzących z mleka obejmuje zdolność do chelatowania jonów metali przez reszty fosfoserynowe oraz do wymiatania wolnych rodników (36). W przypadku białek serwatkowych aktywność antyoksydacyjna związana jest z dużą zawartością reszt cysteiny wspomagającej syntezę glutationu – wewnątrzkomórkowego przeciwutleniacza (24). *Hernández-Ledesma* i współpr. (37) wyizolowali i zidentyfikowali szereg biopeptydów przeciwutleniających z laktoglobuliny- β poddanej hydrolizie z udziałem preparatu Corolase PP. Peptydy o aktywności antyoksydacyjnej zidentyfikowano w hydrolizatach białek miofibrylarnych wieprzowiny otrzymanych z zastosowaniem papainy i aktynazy (33). Były to sekwencje DAQEKLE, DSGVT, IEAEGE, EELDNALN, VPSIDDQEELM. Udowodniono, że karnozyna oraz hydrolizaty białek serwatkowych i sojowych hamują procesy oksydacji tłuszczów w mięsie wieprzowym (38).

Podsumowanie

Żywność jest nie tylko źródłem energii i składników odżywczych o tradycyjnie pojmowanej roli. Obecnie badacze na całym świecie próbują odkryć nowe jej funkcje związane m.in. z obecnością bioaktywnych peptydów np. peptydów przeciwnadciśnieniowych – inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę i peptydów przeciwutleniających. Takie peptydy pochodzące z żywności mogą znaleźć zastosowanie w produkcji żywności funkcjonalnej oraz nutraceutyków wspomagających profilaktykę niektórych dietozależnych chorób cywilizacyjnych.

J. Borawska, M. Darewicz, A. Iwaniak, P. Minkiewicz

BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES FROM FOOD PROTEINS AS FACTORS PREVENTING DIET-RELATED DISEASES

PIŚMIENNICTWO

1. *Bleiel J.*: Functional foods from the perspective of the consumer: How to make it a success? *Int. Dairy J.*, 2010; 20(4): 303-306. – 2. *Darewicz M., Dziuba B., Minkiewicz P., Dziuba J.*: The preventive potential of milk and colostrum proteins and protein fragments. *Food Rev. Int.*, 2011; 27(4): 357-388. – 3. *Muro Urista C., Álvarez Fernández R., Riera Rodríguez F., Arana Cuenca A., Téllez Jurado A.*: Review: Production and functionality of active peptides from milk. *Food Sci. Technol.*, 2011; 17(4): 293-317. – 4. *Pihlanto A., Mäkinen S.*: Antihypertensive properties of plant protein derived peptides. W: *Hernandez-Ledesma B., Hsieh C.-C.*: Bioactive Food Peptides in Health and Disease. INTECH, 2013: 145-182. – 5. *Minkiewicz P., Dziuba J., Michalska J.*: Bovine meat proteins as potential precursors of biologically active peptides--a computational study based on the BIOPEP database. *Food Sci. Technol. Int.*, 2011; 17(1): 39-45. – 6. *Zambrowicz A., Pokora M., Eckert E., Szoltysik M.*: Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes. *Funct. Foods Health Dis.*, 2012; 2(12): 487-500. – 7. *Senevirathne M., Kim S.-K.*: Development of bioactive peptides from fish proteins and their health promoting ability. *Adv. Food Nutr. Res.*, 2012; 65: 235-248. – 8. *Kitts D. D., Weiler K.*: Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr. Pharm. Des.*, 2003; 9(16): 1309-1323. – 9. *Hernández-Ledesma B., Quiros A., Amigo L., Recio I.*: Identification of bioactive peptides after digestion of human milk and infant formula with pepsin and pancreatin. *Int. Dairy J.*, 2007; 17(1): 42-49. – 10. *Segura-Campos M., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., Hernandez-Escalante V. M.*: Bioavailability of bioactive peptides. *Food Rev. Int.*, 2011; 27(3): 213-226.
11. *Sienkiewicz-Szlapka E., Jarmolowska B., Krawczuk S., Kostyra E., Kostyra H., Bielikowicz K.*: Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer. *Int. Dairy J.*, 2009; 19(4): 252-257. – 12. *Kawaguchi K., Nakamura T., Kamiie J., Takahashi T., Yamamoto N.*: Accumulation of ACE inhibitory tripeptides, Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro, in vascular endothelial cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2012; 76(9): 1792-1795. – 13. *Iwaniak A.*: Analiza zależności między strukturą peptydów pochodzących z białek żywności a ich aktywnością inhibitorową wobec enzymu konwertującego angiotensynę. Ocena przydatności metod in silico w badaniach nad białkowymi prekursorami bioaktywnych peptydów. Wyd. UWM, Olsztyn, 2011: 9-31. – 14. *Lee J. K., Lee M.-S., Park H. G., Kim S.-K., Byun H.-G.*: Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide extracted from freshwater zooplankton. *J. Med. Food*, 2010; 13(2): 357-363. – 15. *Norris R., Fitzgerald R. J.*: Antihypertensive peptides from food proteins. W: *Hernandez-Ledesma B., Hsieh C.-C.*: Bioactive Food Peptides in Health and Disease. INTECH, 2013: 45-72. – 16. *Fitzgerald R. J., Meisel H.*: Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. W: *Fox P. F., McSweeney P. L. H.*: Advanced Dairy Chemistry-1 Proteins. Springer US, Boston, 2003: 675-698. – 17. *Li G.-H., Le G.-W., Shi Y.-H., Shrestha S.*: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr. Res.*, 2004; 24(7): 469-486. – 18. *Escudero E., Sentandreu M. A., Arihara K., Toldrá F.*: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides generated from in vitro gastrointestinal digestion of pork meat. *J. Agric. Food Chem.*, 2010; 58(5): 2895-2901. – 19. *Faria M., da Costa E. L., Gontijo J. A. R., Netto F. M.*: Evaluation of the hypotensive potential of bovine and porcine collagen hydrolysates. *J. Med. Food*, 2008; 11(3): 560-567. – 20. *Fujita H., Yokoyama K., Yoshikawa M.*: Classification and antihypertensive activity of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins. *J. Food Sci.*, 2000; 65(4): 564-569.
21. *Zhang J., Zhang H., Wang L., Guo X., Wang X., Yao H.*: Isolation and identification of antioxidative peptides from rice endosperm protein enzymatic hydrolysate by consecutive chromatography and MALDI-TOF/TOF MS/MS. *Food Chem.*, 2010; 119(1): 226-234. – 22. *Zhang Y., Kouguchi T., Shimizu M., Ohmori T., Takahata Y., Morimatsu F.*: Chicken collagen hydrolysate protects rats from hypertension and cardiovascular damage. *J. Med. Food*, 2010; 13(2): 399-405. – 23. *Möller N. P., Scholz-Ahrens K. E., Roos N., Schrezenmeir J.*: Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur. J. Nutr.*, 2008; 47(4): 171-182. – 24. *Korhonen H., Pihlanto A.*: Bioactive Peptides from Food Proteins.

- W: Hui Y.: Handbook of Food Products Manufacturing. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, 2007: 5-37. – 25. Qureshi T. M., Vegarud G. E., Abrahamsen R. K., Skeie S.: Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of the Norwegian autochthonous cheeses Gamalost and Norvegia after in vitro human gastrointestinal digestion. *J. Dairy Sci.*, 2013; 96(2): 838-853. – 26. Yamada Y., Yamauchi D., Usui H., Zhao H., Yokoo M., Ohinata K., Iwai M., Horiuchi M., Yoshikawa M.: Hypotensive activity of novokinin, a potent analogue of ovokinin(2-7), is mediated by angiotensin AT2 receptor and prostaglandin IP receptor. *Peptides*, 2008; 29(3): 412-418. – 27. Ryan J. T., Ross R. P., Bolton D., Fitzgerald G. F., Stanton C.: Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 2011; 3(9): 765-791. – 28. Chen Z.-Y., Peng C., Jiao R., Wong Y. M., Yang N., Huang Y.: Anti-hypertensive nutraceuticals and functional foods. *J. Agric. Food Chem.*, 2009; 57(11): 4485-4499. – 29. Yang Y., Marczak E. D., Yokoo M., Usui H., Yoshikawa M.: Isolation and antihypertensive effect of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from spinach Rubisco. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(17): 4897-4902. – 30. Darewicz M., Dziuba J.: Peptydy funkcjonalnie aktywne. W: Dziuba J., Fornal Ł.: Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności. WNT, Warszawa, 2009: 71-109.
31. Sarmadi B. H., Ismail A.: Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, 2010; 31(10): 1949-1956. – 32. Hoelzl C., Bichler J., Ferk F., Simic T., Nersesyan A., Elbling L., Ehrlich V., Chakraborty A., Knasmüller S.: Methods for the detection of antioxidants which prevent age related diseases: A critical review with particular emphasis on human intervention studies. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2005; 56(Supp 2): 49-64. – 33. Saiga A., Tanabe S., Nishimura T.: Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 2003; 51(12): 3661-3667. – 34. Peña-Ramos E. A., Xiong Y. L.: Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a liposomal system. *J. Dairy Sci.*, 2001; 84(12): 2577-2583. – 35. Chen H.-M., Muramoto K., Yamauchi F., Nokihiro K.: antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.*, 1996; 44: 2619-2623. – 36. Kim S.-Y., Je J.-Y., Kim S.-K.: Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (*Johnius belengerii*) frame protein by gastrointestinal digestion. *J. Nutr. Biochem.*, 2007; 18(1): 31-38. – 37. Hernández-Ledesma B., Dávalos A., Bartolomé B., Amigo L.: Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53: 588-593. – 38. Peña-Ramos E. A., Xiong Y. L.: Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Sci.*, 2003; 64(3): 259-263.

Adres: 10-719 Olsztyn, pl. Cieszyński 1