

MAŁGORZATA DAREWICZ, JUSTYNA BORAWSKA, PIOTR MINKIEWICZ,  
ANNA IWANIAK, PIOTR STAROWICZ

## BIOLOGICZNIE AKTYWNE PEPTYDY UWALNIANE Z BIAŁEK ŻYWNOŚCI

### Streszczenie

Białka żywności charakteryzują się wieloma właściwościami odżywczymi i biologicznymi. Biologicznie aktywne peptydy to fragmenty sekwencji aminokwasowych białek żywności, które stają się aktywne po uwolnieniu. Zwykle są one uwalniane podczas procesów trawienia, fermentacji (dzięki aktywności proteolitycznej mikroorganizmów) lub procesów enzymatycznych *in vitro* i wówczas mogą wpływać na zdrowie człowieka. Z białek żywności wyizolowano szereg peptydów bioaktywnych, w tym: inhibitory enzymu konwertującego angiotensynę, antyoksydacyjne, antymikrobiologiczne, antyamnezyjne, opioidowe, sensoryczne czy wiążące mikroelementy. Badane są także peptydy niekorzystnie oddziałujące na zdrowie człowieka, np. toksyczne dla osób chorych na celiakię. Obecnie kontynuowane są badania w celu wskazania nowych źródeł bioaktywnych peptydów, a także sposobów ich otrzymywania, biodostępności, aktywności biologicznej i mechanizmów działania. W artykule przedyskutowano sposoby otrzymywania bioaktywnych peptydów z białek żywności, wybrane rodzaje ich aktywności biologicznej oraz ich biodostępność.

**Słowa kluczowe:** białka żywności, bioaktywne peptydy, struktura bioaktywnych peptydów, biodostępność

### Wprowadzenie

Żywność konwencjonalną rozpatruje się obecnie nie tylko jako źródło składników odżywczych niezbędnych do utrzymania homeostazy organizmu, ale również jako źródło składników bioaktywnych. Dowiedziono bowiem, że białka żywności są źródłem bioaktywnych peptydów, które mogą regulować procesy fizjologiczne ustroju, w tym wszystkich układów organizmu, np. hormonalnego, immunologicznego, krążenia, nerwowego czy pokarmowego, co wykorzystuje się obecnie m.in. w produkcji

---

Prof. dr hab. M. Darewicz, mgr inż. J. Borawska, dr hab. P. Minkiewicz, prof. UWM, dr hab. A. Iwaniak, prof. UWM, mgr inż. P. Starowicz, Katedra Biochemii Żywności, Wydz. Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn.

Kontakt: darewicz@uwm.edu.pl

żywności funkcjonalnej [4, 53]. Peptydy te mogą być stosowane w profilaktyce lub nawet terapii chorób dietozależnych [54]. Pierwszymi zbadanymi biologicznie aktywnymi peptydami pochodzącymi z kazeiny mleka krowiego były fosfopeptydy, które w 1950 roku Mellander [63] wskazał jako, niezależne od witaminy D, czynniki sprzyjające procesowi kalcyfikacji kości u niemowląt z krzywicą. W latach 70. XX w. naukowcy zaczęli rozpatrywać białka żywności nie tylko jako źródło aminokwasów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu, ale też jako prekursorzy biologicznie aktywnych peptydów [67, 85]. Bioaktywne peptydy to fragmenty sekwencji aminokwasowych białek źródłowych, które pozostają nieaktywne w swoich prekursorach, natomiast po uwolnieniu z białek macierzystych przez enzymy proteolityczne mogą oddziaływać jako modulatory szeregu procesów zachodzących w organizmie. Biopeptyd powinien wykazywać efekt lub efekty biologiczne, które można potwierdzić za pomocą odpowiednich miar i testów (np. pomiar ciśnienia), a ponadto efekty te powinny być korzystne dla zdrowia [71]. Aktywność biologiczna biopeptydów jest podstawowym kryterium ich podziału. Mogą one oddziaływać na homeostazę organizmu człowieka i wpływać na obniżenie ciśnienia krwi, wykazywać aktywność antyoksydacyjną, przeciwdrobnoustrojową, antyamnezyjną, opioidową, kształtować właściwości sensoryczne żywności, wiązać jony metali i brać udział w ich transporcie [12, 13, 14, 26, 44, 48, 49, 67]. Informacje na temat innych rodzajów aktywności biopeptydów dostępne są w internetowych bazach danych [67, 69].

### Otrzymywanie biologicznie aktywnych peptydów

Bioaktywne peptydy mogą być uwolnione z białek żywności podczas: 1) hydrolizy enzymami trawiennymi w układzie pokarmowym człowieka, 2) procesów fermentacji dzięki aktywności proteolitycznej mikroorganizmów, 3) enzymatycznej hydrolizy *in vitro*. W celu otrzymania biopeptydów o określonej aktywności do proteolizy stosowane są proteazy o szerokiej specyficzności działania. Są one otrzymywane z tkanek roślinnych (np. ficyna, papaina, bromelaina, serynowa proteinaza z dyni figolistnej), zwierzęcych (np. pepsyna, chymotrypsyna, trypsyna) oraz komórek mikroorganizmów (np. proteinaza K, pronaza, kolagenaza, subtilizyna A, Alcalase®, Flavourzyme®, Neutrase®). Krótkołańcuchowe peptydy otrzymywano skutecznie, stosując kombinację wyżej wymienionych metod. Biopeptydy mogą być także syntetyzowane chemicznie lub poprzez ekspresję odpowiednich genów [9, 15, 48, 92, 110]. Liczba znanych sekwencji biologicznie aktywnych peptydów pochodzących z białek żywności zwiększa się. Do tej pory zidentyfikowano je we wszystkich surowcach białkowych wykorzystywanych do produkcji żywności oraz w wielu produktach spożywczych, głównie w mleku, fermentowanych produktach mleczarskich i serze [1, 49, 56], surowcach i produktach roślinnych [48, 81], mięsie [86], jajach [18, 19, 82] i rybach [93]. Biologicznie aktywne peptydy pochodzące z białek żywności zawierają 2 ÷ 20 reszt amino-

kwasowych [49]. Występują wśród nich także takie, które mogą się składać z większej liczby reszt aminokwasowych. Przykładem może być glikomakropeptyd, wykazujący wiele rodzajów biologicznej aktywności i zawierający 64 reszty aminokwasowe [101] lub lunazyna – peptyd przeciwnowotworowy pochodzący z soi, składający się z 43 aminokwasów [92].

### **Inhibitory ACE – peptydy odpowiedzialne za obniżanie ciśnienia krwi**

Inhibicja enzymu konwertującego angiotensynę I (ACE; EC 3.4.15.1) przez niektóre peptydy żywności przyczynia się do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi u pacjentów z nadciśnieniem, a peptydy o aktywności inhibitora ACE, stanowiące składniki diety, mogą wspomagać terapię nadciśnienia tętniczego [14, 48, 49]. Informacje dotyczące wpływu struktury i sekwencji aminokwasowej na aktywność peptydów inhibitorów ACE zostały przedstawione i przedyskutowane w pracy przeglądowej autorstwa Iwaniak i wsp. [32]. Sekwencje aminokwasowe inhibitorów ACE są obecne w białkach żywności różnego pochodzenia. Efekt ich działania potwierdzono w badaniach na ludziach oraz w testach *in vitro* na szczurach rasy Wistar z wrodzonym nadciśnieniem tętniczym (SHR) [49]. Białka mleka oraz produktów mleczarskich pełnią wiodącą rolę wśród żywności będącej źródłem inhibitorów ACE [32]. Na rynku produktów funkcjonalnych dostępne są napoje mleczne „Calpis” (Japonia) i „Evolus” (Finlandia), zawierające peptydy VPP z  $\beta$ -kazeiny i IPP z  $\kappa$ -kazeiny. Codzienne picie 95 ml porcji napoju „Calpis” przez 4 do 8 tygodni obniżało skurczowe/rozkurczowe ciśnienie krwi u ludzi o 14,9/8,8 mm Hg [14, 97]. Badania szczurów z nadciśnieniem wykazały, że peptydy o sekwencjach YGLF i YLFF ( $\beta$ -laktorfiny), pochodzące z  $\beta$ -laktoglobuliny, poprawiały relaksację tętnic, a peptyd o sekwencji ALPM, zwany  $\beta$ -laktozyną, obniżał ciśnienie krwi u szczurów z wrodzonym nadciśnieniem [37]. Kovacs-Nolan i wsp. [50] oraz Pokora i wsp. [82] wykazali, że niektóre białka jaja kurzego mogą być dobrym źródłem peptydów redukujących ciśnienie krwi. Przykładem jest owoalbumina, w której zidentyfikowano następujące peptydy przeciwnadciśnieniowe: YAEERYPIL (31,6), IVF (31,7), RADHPFL (34,0) [65], RADHP (25,0) [64], FRADHPFL (18,0), RADHPF (10,6), LW (22,0) [58]. W nawiasach podano poziom redukcji ciśnienia tętniczego krwi u szczurów w mm Hg. Biopeptydy, w tym inhibitory ACE zidentyfikowano w białkach mięsa wieprzowego, wołowego, drobiowego [86] oraz w produktach mięsnych, np. w wędzonej szynce hiszpańskiej [20]. W hydrolizatach enzymatycznych miozyny wieprzowej (łańcuch ciężki) zidentyfikowano miopentapeptydy A (MNPPK) oraz B (ITTNP). Karmienie szczurów dawką 1 mg tych peptydów na kilogram masy ciała powodowało obniżenie skurczowego ciśnienia krwi odpowiednio o 23,4 oraz 21,0 mm Hg [72]. Źródłem inhibitorów ACE jest wędzona szynka hiszpańska. Wykazano, że wyizolowany z ekstraktów wodnych wędzonej szynki hiszpańskiej peptyd o sekwencji AAATP obniżał o  $62 \pm 4,5$  mm Hg

skurczowe ciśnienie krwi u szczurów z nadciśnieniem. Redukcja ciśnienia krwi następowała po ośmiu godzinach od momentu bezpośredniej intubacji do żołądka dawki peptydu wynoszącej 1 mg/cm<sup>3</sup> wody destylowanej [20, 21]. Białka ryb mogą być także źródłem peptydów przeciwnadciśnieniowych. Na przykład podanie pacjentom hydrolizatu tkanki mięśniowej sardynek zawierającego peptyd VY (4 g hydrolizatu/200 ml dziennie) powodowało redukcję skurczowego/rozkurczowego ciśnienia krwi o 9,3/5,2 mm Hg [62]. Na rynku azjatyckim dostępny jest produkt o nazwie Valtyron®, mający w Japonii status żywności „Food for Specified Health Use” (FOSHU). Preparat ten zawiera peptyd VT otrzymywany z białek tkanki mięśniowej sardynek [26]. Innym przykładem jest preparat „Katsuobushi oligopeptide”, zawierający sekwencję LKPNM, pochodzącą z termolizynowego hydrolizatu białek wędzonych sardynek. Spożywanie preparatu Katsuobushi przez osiem tygodni przez pacjentów z nadciśnieniem tętniczym obniżało ich ciśnienie o 12,55 ± 1,5 mm Hg [86]. Cennym źródłem peptydów – inhibitorów ACE są białka roślin [61]. Inhibitory ACE powstają podczas trawienia w przewodzie pokarmowym np. białek soi. Są to peptydy o sekwencji aminokwasowej: VLIVP, YLAGNQ, FFL, IYLL oraz VMNKPG [8]. Cztery inne peptydy, tj. IY, RIY, VWV, WIS otrzymane po hydrolizie białek rzepaku przez subtylizynę wykazują oporność na działanie enzymów przewodu pokarmowego. Dawka 0,15 g tego hydrolizatu na kilogram masy ciała obniżała ciśnienie krwi u szczurów [61]. Źródłem peptydów inhibitorów ACE są także  $\alpha$ -zeina kukurydzy [6], karboksylaza rybulozo-1,5-bisfosforanu [E.C. 4.1.1.39] (in. RuBisCO) rzepaku [61], soczewica [35], groch [36]. Inhibitory ACE są składnikami roślinnych potraw kuchni azjatyckiej, jak natto (Japonia), tempe (Indonezja), douchi (zawiera chińską fermentowaną czarną fasolę), tofu „Tofuyo”, makaron i sos sojowy [111].

### Peptydy antyoksydacyjne

Wolne rodniki są jednym z czynników etiologicznych wielu tzw. chorób cywilizacyjnych, w tym nowotworów, chorób układu krwionośnego, cukrzycy czy chorób reumatycznych. Uważane są za jedną z przyczyn chorób neurodegradacyjnych [83]. Hydrolizaty białek: mleka, pszenicy, soi, jaj, krewetek, ostroboka, kapeliny, makreli, śledzia, tuńczyka, soli czy mintaja wykazują aktywność antyoksydacyjną [46]. Składnikami peptydów antyoksydacyjnych są reszty aminokwasowe histydyny lub tyrozyny, które w postaci wolnej także wykazują aktywność przeciwutleniającą. Podobne właściwości mają też: metionina, lizyna, arginina, fenyloalanina i tryptofan [81, 87]. Mleko i produkty mleczarskie są podstawowym źródłem, z którego izolowano peptydy o właściwościach antyoksydacyjnych [99]. Aktywność taką wykazuje  $\beta$ -kazeina i uwalniane z niej peptydy, np. o sekwencji: VKEAMAPK, AVPYYPQR, KVLVPEK, VLPVPEK oraz  $\alpha_{s1}$ -kazeina, np. o sekwencji YFYPEL [48]. W przypadku białek serwatkowych aktywność antyoksydacyjna związana jest z dużą zawartością reszt cystei-

ny wspomagającej syntezę glutationu – wewnątrzkomórkowego przeciwutleniacza [48]. Hernández-Ledesma i wsp. [28] wyizolowali i zidentyfikowali szereg biopeptydów przeciwutleniających z  $\beta$ -laktoglobuliny poddanej hydrolizie z udziałem preparatu Corolase PP. Peptydy o aktywności antyoksydacyjnej zidentyfikowano w hydrolizatach białek miofibrylarnych wieprzowiny otrzymanych z zastosowaniem papainy i aktyazy [87]. Były to sekwencje: DAQEKLE, DSGVT, IEAEGE, EELDNALN, VPSIDDQEELM. Aktywność antyoksydacyjną wykazują niektóre peptydy powstające podczas hydrolizy np.  $\beta$ -konglicyniny soi (LLPHH), białek mięsa mintaja (FPLEMMPF), owoalbuminy jaja kurzego (YAEERYPIL) [13] czy grochu [40]. Peptydy antyoksydacyjne w żywności mogą być stosowane jako czynniki zapobiegające niekorzystnym zmianom tekstury, cech sensorycznych, funkcjonalnych i odżywczych.

### Peptydy antymikrobiologiczne

Peptydy antymikrobiologiczne pochodzące z żywności mogą zawierać nawet do 50 reszt aminokwasowych. W warunkach naturalnych występują zazwyczaj w formie kationowej, zawierają aminokwasy hydrofobowe i wykazują szerokie spektrum działania w stosunku do bakterii, wirusów i grzybów. Pomimo intensywnie prowadzonych badań, mechanizm ich działania nie jest do końca poznany [25]. Wśród najważniejszych efektów działania tych peptydów wymieniane są: zmiany przepuszczalności błony komórkowej, destabilizacja jej struktury lipidowej, tworzenie micel lub kanałów w błonie, wiązanie z lipopolisacharydem, zatrzymywanie replikacji DNA, hamowanie ekspresji białek oraz uwalnianie ATP, a w kolejnym etapie – liza komórek. Aktywność antymikrobiologiczna peptydów w stosunku do drobnoustrojów przypisywana jest także ich zdolności do przyjmowania amfipatycznej struktury  $\alpha$ -helikalnej. [70]. Pierwszymi peptydami obronnymi były kazecydyny wyizolowane z kazeiny mleka krowiego poddanej hydrolizie chymozyną. Właściwości antymikrobiologiczne wykazuje także np. fragment 1-23  $\alpha_{s1}$ -kazeiny znany jako isracydyna [52], fragment  $\alpha_{s2}$ -kazeiny (reszty 165-203) [113], fragment 184-209  $\beta$ -kazeiny [66] czy kappacyna pochodząca z  $\kappa$ -kazeiny (pozbawiony reszt cukrowych fragment 106-169) [27]. Z  $\alpha$ -laktoalbuminy wyizolowano trzy peptydy antybakteryjne: LDT1 (1-5), LDT2 (17-31)S-S(109-114), LDC (61-68)S-S(75-80) [80]. Dwa pierwsze powstają pod wpływem działania trypsyny, zaś trzeci – chymotrypsyny. Udowodniono, że pepsynowy hydroliżat laktoferryiny, zawierający w pozycjach od 17 do 41 fragment zwany laktoferycyną, odznacza się większą aktywnością antymikrobiologiczną niż macierzysty peptyd [102]. Van der Kraan i wsp. [105] wyizolowali i scharakteryzowali nowy peptyd pochodzący z laktoferryiny – laktoferrampinę (fragment 268-284). Laktoferryina i jej peptydy wykazują również właściwości przeciwrzybicze [104]. Udowodniono obecność peptydów antybakteryjnych w sekwencjach lizozymu (fragment 98-112) i owotransfe-

ryny jaja kurzego (fragment 109-200) [57]. Aktywność antymikrobiologiczną wykazują także hydrolizaty kolagenu tuńczyka [24] i białek homara [2].

### **Peptydy antyamnezyczne i inne inhibitory enzymów proteolitycznych specyficznych względem wiązań tworzonych przez reszty proliny**

Endopeptydaza prolinowa (EC 3.4.21.26) to enzym należący do klasy hydrolaz, katalizujący rozpad wiązań utworzonych przy udziale proliny w oligopeptydach i białkach. Enzym ten stosowany jest m.in. do modyfikowania właściwości immunoreaktywnych białek pszenicy w profilaktyce żywieniowej osób chorych na celiakię. Podwyższone stężenie endopeptydazy prolinowej w surowicy krwi zaobserwowano u pacjentów z zaburzeniami pamięci, w tym także u chorych na chorobę Alzheimera i schizofrenię [107]. Fragmenty  $\beta$ -kazeiny wykazujące aktywność hamującą wobec endopeptydazy prolinowej najprawdopodobniej przeciwdziałają utracie pamięci [98]. Dipeptydylopeptydaza IV (DPP4) (EC 3.4.14.5) jest najlepiej poznanym i najdokładniej opisanym enzymem z grupy peptydaz prolinowych, ze względu na jej istotną rolę w gospodarce glukozowej organizmu człowieka poprzez regulację wydzielania glukagonopodobnego peptydu insulintropowego [55]. Peptydowe inhibitory endopeptydaz prolinowych, w tym dipeptydylopeptydazy IV znajdują się m.in. w produktach zbożowych [7], czerwonym winie [108], mleku [73], zielonej herbacie, ziołach, jak również w rybach i owocach morza [107]. Przykładami inhibitorów endopeptydaz prolinowych pochodzących z żywności są peptydy: HLPPPV – produkt hydrolizy  $\gamma$ -zeiny przez subtylizynę oraz LLSPWNINA – peptyd wyizolowany z produktów ubocznych powstających przy produkcji sake [34].

### **Peptydy opioidowe**

Peptydy opioidowe są ligandami receptorów opioidowych. Mają wpływ na funkcjonowanie układu nerwowego, m.in. osłabiają odczuwanie bólu, działają uspokajająco, wpływają na zachowania seksualne, wahania temperatury ciała, apetyt. Z drugiej strony ich wchłanianie z przewodu pokarmowego sprzyja zaburzeniom psychicznym [34]. Spośród białek żywności głównymi prekursorami peptydów opioidowych są białka mleka [34, 47], gluten pszeniczny [109],  $\beta$ -konglicynina soi [76], enzym RuBisCO pochodzący ze szpinaku [30] oraz krowia hemoglobina [112]. Charakterystyczne dla peptydów opioidowych pochodzących z bydlęcej kazeiny są m.in. sekwencje  $\beta$ -kazeiny:  $\beta$ -kazomorfiny-11 (YFPFGPIPNSL),  $\beta$ -kazomorfiny-7 (YFPFGPI) i  $\beta$ -kazomorfiny-5 (YFPFG). Aktywność opioidową wykazuje również fragment 90-96  $\alpha_{s1}$ -kazeiny (YLGYLE) [38]. Nydahl i wsp. [75] opisali przemiany hemorfin (peptydów opioidowych pochodzących z hemoglobiny) w mózgu szczura. Peptydy opioidowe pochodzące z gliadyny pszenicy stymulowały u szczurów rozwój neuronów [3]

oraz wydzielanie prolaktyny [22]. Peptydy te poprawiały też zdolność uczenia się u młodych szczurów [17]. Reichelt i Knivsberg [84] przedstawili hipotezę przedstawiającą peptydy opioidowe jako jeden z czynników wywołujących objawy autyzmu. Sevrance i wsp. [91] wymienili zapalenie jelita jako czynnik sprzyjający przedostawaniu się peptydów opioidowych pochodzących z mleka i glutenu do krwi i układu nerwowego. Wymienione zjawisko sprzyja rozwojowi schizofrenii.

### Peptydy kształtujące wrażenia smakowe

Kamei i wsp. [39], stosując hydrolizę z udziałem proteazy V8 *Staphylococcus aureus*, endopeptydazy lizylowej oraz aminopeptydazy pyroglutamylowej wyizolowali z gurmaru (*Gymnema sylvestre*) polipeptyd gurmarnę o smaku słodkim. Gurmarnę o masie 4209 Da zawiera 35 reszt aminokwasowych oraz resztę pyroglutamylową w pozycji N-terminalnej. Peptydy o smaku słonym uznawane są za korzystną przyprawę kuchenną zastępującą sól kuchenną zwłaszcza dla diabetyków oraz pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [44]. Przykładami peptydów o smaku słonym są dipeptydy arginylowe zidentyfikowane w chymotrypsynowych i trypsynowych hydrolizatach białek ryb. Za najbardziej aktywne uznano następujące sekwencje aminokwasowe: RP, RA, AR, RG, RS, RV, VR oraz RM, a obecność L-argininy decydowała o aktywności wymienionych peptydów [89]. Z kolei aminokwasami decydującymi o kwaśnym smaku peptydów są reszty kwasu glutaminowego i/lub asparaginowego [44]. Wiele białek żywności jest także prekursorami peptydów o smaku gorzkim. Smak gorzki jest szczególnie niepożądany zwłaszcza w przypadku odżywek, których składnikiem są hydrolizaty białkowe [78] lub serów dojrzewających [5]. Według Kilary i Panyama [44] na goryczkę peptydów wpływa obecność następujących reszt aminokwasowych: L-Tyr, L-Phe, L-Leu. Przykładami peptydów o smaku gorzkim, pochodzących z kazeiny mleka krowiego, są sekwencje: AQTQSLVYFPFGPIPNSLPQNIPPLTQ, GPFVIPPVAPPEVPGK, PALPEYLK, RGPPFIV, VYFPFPGINH oraz poddana cyklizacji LWLW [44]. W skład peptydów wywołujących wrażenie smakowe umami wchodzi glutaminiany. Wśród tych peptydów znajduje się tzw. pyszny peptyd (ang. *delicious peptide*) wyizolowany z bulionu wołowego i zbudowany z ośmiu reszt aminokwasowych KGDEESLA. Wrażenie smakowe umami przypisywane jest też krótszym fragmentom tej sekwencji, takim jak: GD, DE, EE, KG oraz sekwencjom: GDG, AEA, VEV, DL, EEE [100]. Analiza właściwości sensorycznych peptydów nie jest prosta. Przykładem są peptydy otrzymane z sosu rybnego w procesie długotrwałej fermentacji. Uzyskanych w ten sposób 17 sekwencji nie wykazywało żadnego wrażenia smakowego w środowisku pozbawionym chlorku sodu. W roztworze NaCl o stężeniu 0,3 % wszystkie peptydy wykazywały smak umami i słodki [33].

### Peptydy wiążące mikro- i makroelementy

Przykładem peptydów wiążących jony metali są kazeinofosfopeptydy (ang. *caseinphosphopeptides*, CPPs). Są to następujące fragmenty  $\alpha_{s1}$ -kazeiny: (59-79, 64-84),  $\alpha_{s2}$ -kazeiny: (1-21, 46-70),  $\beta$ -kazeiny (1-25) oraz  $\kappa$ -kazeiny (147-153). Peptydy te są odpowiedzialne za remineralizację szkliwa oraz zwiększanie biodostępności wapnia i innych pierwiastków, jak: cynk, miedź, mangan i żelazo dla organizmu człowieka [79]. Innym źródłem peptydów wiążących jony wapnia są zidentyfikowane w trypsynowym hydrolizacie białek serwatkowych sekwencje aminokwasowe pochodzące z  $\alpha$ -laktoalbuminy – FLDDLTD, ILDK oraz sekwencje IPAVFK i VYVEELK z  $\beta$ -laktoglobuliny [45]. Huang i wsp. [31] wyizolowali z białek krewetek heptapeptyd LPTGPKS odpowiedzialny za wiązanie jonów żelaza. Białka pochodzące ze szkieletu ryby hoki (*Johnius belengerii*) poddane działaniu enzymów wyizolowanych z jelita tuńczyka uwalniały fosfopeptyd (FSP, ang. *fish bone phosphopeptide*). Peptyd ten zawierał 23,6 % fosforu i był odpowiedzialny za wiązanie jonów wapnia, nie tworząc przy tym nierozpuszczalnego fosforanu wapnia [42]. Peptydy o właściwościach wiążących jony metali zidentyfikowano także w hydrolizatach białek kielków pszenicy [59]. Natomiast Torres-Fuentes i wsp. [103] w hydrolizatach białek grochu zidentyfikowali peptydy o zdolności chelatowania jonów miedzi i żelaza. Peptydy wiążące jony metali są dostępne na rynku w postaci składników past do zębów oraz mogą być składnikami odżywek dla niemowląt (CPP). Dodawanie CPP do odżywek sojowych zwiększa biodostępność pierwiastków [33].

### Peptydy toksyczne dla osób chorych na celiakię

Peptydy biologicznie aktywne zwykle korzystnie oddziałują na organizm człowieka. Do wyjątków należą peptydy toksyczne dla osób chorych na celiakię. Definicja celiakii oraz terminologia dotycząca tej choroby były dyskutowane w pracy Ludvigsson i wsp. [60]. Zalecanym sposobem leczenia celiakii jest eliminacja z diety produktów zawierających gluten pszeniczny i homologiczne białka innych zbóż wykazujące reaktywność krzyżową z gliadynami [12]. Przedmiotem badań są także modyfikacje enzymatyczne glutenu. Peptydy pochodzące z gliadyn pszenicy wykazują toksyczność dla osób chorych na celiakię. Przykładem jest peptyd o sekwencji aminokwasowej: LQLQPFQPQLPYPQPQLPYPQPQLPYPQPQP [95]. Cechą charakterystyczną peptydów celiakiotoksycznych jest oporność na proteolizę w przewodzie pokarmowym [77]. Liczne peptydy zawierające wspólne epitopy z gliadynami pszenicy i wykazujące reaktywność krzyżową z wymienionym peptydem wykryto ostatnio w piwie [10]. Reakcje immunologiczne *in vitro* i *in vivo* są wywoływane także przez krótsze fragmenty gliadyn, np. LQLQPFQPQLPY, QPQSFPPQQQ czy PYPQPQLPY [11, 16]. Peptydami celiakiotoksycznymi są głównie fragmenty glutenu pszenicy, a także żyta i jęcz-



mienia. Opisano także toksyczność fragmentów zeiny kukurydzy [77]. Fragmenty białek nienależących do rodziny prolamin, np. kazeiny czy białek drożdży także oddziałują z immunoglobulinami A pacjentów chorych na celiakię [106].

### **Biodostępność peptydów bioaktywnych**

Aktywność biologiczna peptydów, wykazywana w warunkach *in vitro*, nie zawsze przekłada się na efekty biologiczne *in vivo* ze względu na mechanizmy molekularne absorpcji i transportu biopeptydów oraz ich podatności na hydrolizę enzymatyczną do nieaktywnych fragmentów [29]. Zasadnicze znaczenie dla efektu fizjologicznego ma zachowanie stabilnej, natywnej struktury peptydów podczas interakcji z docelowym receptorem. Trawienie białek w przewodzie pokarmowym zaczyna się w żołądku od hydrolizy pepsyną [EC 3.4.23.1] i jest kontynuowane w jelicie cienkim z udziałem trzustkowych endopeptydaz – trypsyny [EC 3.4.21.4], chymotrypsyny [EC 3.4.21.1], elastazy [EC 3.4.21.36] oraz egzopeptydaz – karboksypeptydazy A [EC 3.4.17.1] i B [EC 3.4.17.2], a także peptydaz obecnych w rąbku szczoteczkowym błony śluzowej jelita, co prowadzi do wytworzenia mieszaniny oligopeptydów i wolnych aminokwasów [90]. Udowodniono, że obecność prolina na C-końcu peptydu chroni go przed hydrolizą enzymatyczną w układzie pokarmowym i pośrednio wpływa na jego biodostępność [23, 90]. Znaczna większość bioaktywnych peptydów stanowią krótkie fragmenty – di- oraz tripeptydy (np. duża część inhibitorów ACE), które mogą przekraczać barierę jelitową i docierać w postaci niezmienionej do miejsca oddziaływania, a następnie wpływać na funkcje fizjologiczne organizmu [41, 96]. Wchłanianie peptydów przez jednowarstwowe komórki nabłonka jelitowego może odbywać się w różny sposób [88]. Mechanizm transportu di- i tripeptydów polega głównie na obecności w komórkach nabłonka jelitowego protonozależnych nośników PepT1. Znajdują się one w obrębie rąbka szczoteczkowego jelita cienkiego i przenoszą krótkie peptydy wprost do jednowarstwowych komórek nabłonka jelitowego. Transportery te nie wykazują specyficzności względem sekwencji peptydów [23]. Wewnątrz komórki peptydy są hydrolizowane przez peptydazy cytoplazmatyczne do wolnych aminokwasów, które są transportowane wzdłuż błony boczno podstawnej z udziałem nośnika aminokwasów. Niektóre di- i tripeptydy odporne na działanie peptydaz wewnątrzkomórkowych mogą być przenoszone w niezmienionej formie za pomocą nośnika PepT1 do układu krwionośnego. Zachodzi także transport bierny di- i tripeptydów z jelita między komórkami nabłonka jelit do krwiobiegu. Transport ten polega na przenikaniu przez połączenia jelitowe tworzone przez białka membranowe sąsiadujących enterocytów. Pętle wewnątrzkomórkowe tych białek są ze sobą szczelnie połączone, ale na ich spojeniu znajdują się niewielkie pory umożliwiające przenikanie związków niskocząsteczkowych poprzez bierną dyfuzję [74, 90]. Wykazano, że peptydy przeciwnadciśnieniowe IPP oraz VPP z  $\beta$ -kazeiny ulegają wchłanianiu na drodze międzykomórkowej [51].

W wyjątkowych przypadkach oligopeptydy wykazujące powinowactwo do powierzchni błony komórkowej mogą być przenoszone przy wykorzystaniu mechanizmu transcytozy [90]. Przeprowadzono badania dotyczące mechanizmu transportu bioaktywnych peptydów z zastosowaniem linii komórkowej Caco-2. Wykazano, że peptydy przeciwnadciśnieniowe, w tym inhibitory ACE (np. IF, AF, IPP i VPP) oraz peptydy opioidowe, zachowują stabilną strukturę podczas przenikania przez monowarstwę nabłonka [23, 96]. Stwierdzono, że efektywność transportu zależy od ładunku, masy cząsteczkowej oraz hydrofobowości peptydów [96]. W celu poprawy biodostępności bioaktywnych peptydów prowadzone są badania nad stosowaniem odpowiednich nośników, które mogą chronić biopeptydy przed działaniem niskiego pH w żołądku, a po dostaniu się do jelit rozpuszczać je, umożliwiając ich wchłanianie [94]. W 2010 roku ukazał się patent opisujący możliwość zwiększenia biodostępności biopeptydów VPP, IPP oraz LPP poprzez zastosowanie dodatku błonnika pokarmowego ze zbóż, warzyw lub owoców [43]. Analizuje się także chemiczną modyfikację peptydów (np. poprzez glikozylację) i stosowanie emulsji lub procesu mikrokapsułkowania, które zmniejszyłyby wpływ enzymów trawiennych oraz zwiększyłyby wchłanianie biopeptydów do krwi [74, 81].

### Podsumowanie

Przeprowadzono wiele badań, których celem było wykazanie, że żywność jest źródłem biopeptydów, które regulują działanie np. układu krążenia, pokarmowego systemu hormonalnego i nerwowego. Oznacza to, że bioaktywne peptydy mogą wpływać na psychofizyczną kondycję organizmu człowieka. Przyjmuje się również, że biopeptydy mogą chronić organizm przed rozwojem chorób lub nawet mogą być stosowane w terapii wielu schorzeń. Procedury otrzymywania biologicznie aktywnych peptydów o potencjalnym działaniu profilaktycznym obejmują wykorzystanie metod analitycznych, komputerowych oraz technik proteomicznych i peptydomicznych, stosowanych w warunkach *in vitro*, *in vivo* oraz *in silico*, obejmujących procesy hydrolyzy, rozdzielania, identyfikowania i oznaczania aktywności otrzymanych fragmentów białek wraz analizą zależności między strukturą a funkcją biologiczną.

*Praca finansowana w ramach projektu NCN nr N N312 465240 i tematu statutowego Katedry Biochemii Żywności UWM w Olsztynie.*

### Literatura

- [1] Artym J., Zimecki M.: Milk-derived proteins and peptides in clinical trials. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013, **67**, 800-816.
- [2] Battison A.L., Summerfield R., Patrzykat A.: Isolation and characterization of two antimicrobial peptides from haemocytes of the American lobster *Homarus americanus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 2008, **25**, 181-187.

- [3] Belyaeva Y.A., Dubynin V.A., Stovolosov I.S., Kamensky A.A.: Neurotropic activity of exorphins with different affinity to the opioid receptors of  $\mu$  and  $\delta$ -types. *Neurochem. J.*, 2008, **2**, 47-52.
- [4] Bleiel J.: Functional foods from the perspective of the consumer: How to make it a success? *Int. Dairy J.*, 2010, **20**, 303-306.
- [5] Broadbent J.R., Barnes M., Brennan C., Strickland M., Houck K., Johnson M.E., Steele J.L.: Contribution of *Lactococcus lactis* cell envelope proteinase specificity to peptide accumulation and bitterness in reduced-fat Cheddar cheese. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 1778-1785.
- [6] Byun H-G, Kim S-K.: Structure and activity of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from Alaskan pollack skin. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2002, **35**, 239-243.
- [7] Cavazos A., Gonzalez de Meija E.: Identification of bioactive peptides from cereal storage proteins and their potential role in prevention of chronic diseases. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2013, **12**, 364-380.
- [8] 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**, 4485-4499.
- [9] Choińska A., Łaba W., Rodziewicz A., Bogacka A.: Proteoliza keratyny piór kurzych z wykorzystaniem pozakomórkowych enzymów proteolitycznych szczepu *Bacillus cereus* B5E/SZ. *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2011, **6 (79)**, 204-213.
- [10] Comino I., Real A., Moreno M., Montes R., Cebolla Á., Sousa C.: Immunological determination of gliadin 33-mer equivalent peptides in beers as a specific and practical analytical method to assess safety for celiac patients. *J. Sci. Food Agric.*, 2013, **93**, 933-943.
- [11] Darewicz M., Dziuba J., Minkiewicz P.: Computational characterisation and identification of peptides for *in silico* detection of potentially celiac-toxic proteins. *Food Sci. Technol. Int.*, 2007, **13**, 125-133.
- [12] Darewicz M., Dziuba J., Minkiewicz P.: Celiac disease-background, molecular, bioinformatics and analytical aspects. *Food Rev. Int.*, 2008, **24**, 311-329.
- [13] Darewicz M., Dziuba J.: Peptydy funkcjonalnie aktywne. W: *Biologicznie aktywne peptydy i białka żywności*. Red: J. Dziuba i Ł. Fornal. WNT, Warszawa 2009, ss. 71-109.
- [14] Darewicz M., Dziuba B., Minkiewicz P., Dziuba J.: The preventive potential of milk and colostrums proteins and protein fragments. *Food Rev. Int.*, 2011, **27**, 357-388.
- [15] Dąbrowska A., Szołtysik M., Babij K., Pokora M., Zambrowicz A., Chrzanowska J.: Application of Asianpumpkin (*Cucurbita ficifolia*) serine proteinase for production of biologically active peptides from casein. *Acta Biochim. Polon.*, 2013, **60**, 117-122.
- [16] Dewar D., Pereira S.P., Ciclitira P.J.: The pathogenesis of celiac disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004, **36**, 17-24.
- [17] Dubynin V.A., Malinovskaya I.V., Belyaeva Y.A., Stovolosov I.S., Bessalova Z.D., Andreeva L.A., Kamenskii A.A., Myasoedov N.F.: Delayed effect of exorphins on learning of albino rat pups. *Biol. Bull.*, 2008, **35**, 43-49.
- [18] Eckert E., Zambrowicz A., Pokora M., Dąbrowska A., Szołtysik M., Chrzanowska J., Trziszka T.: Application of microbial proteases to obtain egg yolk protein hydrolysates with antioxidant and antimicrobial activity. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2013, **1 (86)**, 105-118.
- [19] Eckert E., Zambrowicz A., Pokora M., Polanowski A., Chrzanowska J., Szołtysik M., Dąbrowska A., Różański H., Trziszka T.: Biologically active peptides derived from egg proteins. *World's Poultry Sci. J.*, 2013, **69**, 375-386.
- [20] Escudero A., Aristoy M.-C., Nishimura H., Arihara K., Toldrá F.: Antihypertensive effect and antioxidative activity of peptide fractions extracted from Spanish dry-cured ham. *Meat. Sci.*, 2012, **91**, 306-311.
- [21] Escudero E., Mora L., Fraser P.D., Aristoy M.-C., Arihara K., Toldrá F.: Purification and identification of antihypertensive peptides in Spanish dry-cured ham. *J. Proteom.*, 2013, **78**, 499-507.
- [22] Fanciulli G., Dettori A., Demontis M.P., Anania V., Delitala G.: Serum prolactin levels after administration of the alimentary opioid peptide gluten exorphin B4 in male rats. *Nutr. Neurosci.*, 2004, **7**, 53-55.
- [23] Foltz M., Cerstiaens A., van Meensel A., Mols R., van der Pijl P.C., Duchateau G.S.M.J.E., Augustijns P.: The angiotensin converting enzyme inhibitory tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro

- show increasing permeabilities with increasing physiological relevance of absorption models. *Peptides*, 2008, **29**, 1312-1320.
- [24] Gómez-Guillén M.C., Giménez B., López-Caballero M.E., Montero M.P.: Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocoll.*, 2011, **25**, 1813-1827.
- [25] Hancock R.E., Sahl H.-G.: Antimicrobial and host-defence peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *Nature Biotechnol.*, 2006, **24**, 1551-1557.
- [26] Harnedy P.A., FitzGerald R.J.: Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *J. Funct. Foods*, 2012, **4**, 6-24.
- [27] Hayes M., Barrett E., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Hill C., Stanton C.: Evaluation of an antimicrobial ingredient prepared from a *Lactobacillus acidophilus* casein fermentate against *Enterobacter sakazakii*. *J. Food Protect.*, 2009, **72**, 340-346.
- [28] 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.
- [29] 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**, 42-49.
- [30] Hirata H., Sonoda S., Agui S., Yoshida M., Ohinata K., Yoshikawa M.: Rubiscolin-6, a  $\delta$  opioid peptide derived from spinach Rubisco, has anxiolytic effect via activating  $\sigma_1$  and dopamine D<sub>1</sub> receptors. *Peptides*, 2007, **28**, 1998-2003.
- [31] Huang G.-R., Ren Z.-Y., Jiang J.-X., Chen W.-W.: Purification of a hepta-peptide with iron binding activity from shrimp processing by-products hydrolysates. *Adv. J. Food Sci. Technol.*, 2012, **4**, 207-212.
- [32] Iwaniak A., Minkiewicz P., Darewicz M.: Food-originating ACE inhibitors, including antihypertensive peptides, as preventive food components in blood pressure reduction. *Compr. Revs Food Sci. Food Saf.*, 2014, **13**, 114-134.
- [33] Iwaniak A., Minkiewicz P.: Proteins as the source of physiologically and functionally active peptides. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.*, 2007, **3** (6), 5-15.
- [34] Iwaniak A., Minkiewicz P.: Biologically active peptides derived from proteins – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, **58**, 289-294.
- [35] Jakubczyk A., Baraniak B.: Activities and sequences of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides obtained from the digested lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2013, **48**, 2363-2369.
- [36] Jakubczyk A., Karaś M., Baraniak B., Pietrzak M.: The impact of fermentation and *in vitro* digestion on formation angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from pea proteins. *Food Chem.*, 2013, **141**, 3774-80.
- [37] Jäkälä P., Vapaatalo H.: Antihypertensive peptides from milk proteins. *Pharmaceuticals*, 2010, **3**, 251-272.
- [38] Jinsmaa Y., Yoshikawa M.: Enzymatic release of neocasomorphin and  $\beta$ -casomorphin from bovine  $\beta$ -casein. *Peptides*, 1999, **20**, 957-962.
- [39] Kamei K., Takano R., Miyasaka A., Imoto T., Hara S.: Amino acid sequence of sweet-taste-suppressing peptide (gurmarin) from the leaves of *Gymnema sylvestre*. *J. Biochem.* 1992, **1** (111), 109-112.
- [40] Karaś M., Jakubczyk A., Baraniak B.: Antiradical and antihypertensive activity of peptides obtained from proteins pea sprouts (*Pisum sativum*) by enzymatic hydrolysis. *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska Lublin – Polonia*, 2010, **6** (23), 115-121.
- [41] Kawaguchi K., Nakamura T., Kamiye 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**, 1792-1795.
- [42] Khora S.S.: Marine fish-derived bioactive peptides and proteins for human therapeutics. *Int. J. Pharmacy Pharmaceut. Sci.*, 2013, **5**, 31-37.
- [43] Kies A.K., van der Pijl P.C.: Improved peptide availability. Patent UE 2010, 26994-WO-PTC.

- [44] Kilara A., Panyam D.: Peptides from milk proteins and their properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2003, **43**, 607-633.
- [45] Kim S.B., Lim J.W.: Calcium-binding peptides derived from tryptichydrolysates of cheese whey protein. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, 2004, **17**, 1459-1464.
- [46] Klompong V., Benjakul S., Kantachote D., Shahidi F.: Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chem.*, 2007, **102**, 1317-1327.
- [47] Kostyra E., Sienkiewicz-Szłapka E., Jarmołowska B., Krawczuk S., Kostyra H.: Opioid peptides derived from milk proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2004, **13**, 25-35.
- [48] Korhonen H., Pihlanto A.: Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 945-960.
- [49] Korhonen H.: Bioactive milk proteins and peptides: from science to functional applications. *Aust. J. Dairy Technol.*, 2009, **64**, 16-25.
- [50] Kovacs-Nolan J., Phillips M., Mine Y.: Advances in the value of eggs and egg components for human health. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, **53**, 8421-8431.
- [51] Kurosawa M.T., Nakamura Y., Yamamoto N., Yamada K., Iketani T.: Effects of Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro on nondipper patients: a preliminary study. *J. Med. Food*, 2011, **14**, 538-542.
- [52] Lahov E., Regelson W.: Antibacterial and immunostimulating casein-derived substances from milk, caseicin, isracidin peptides. *Food Chem. Toxicol.*, 1996, **34**, 131-145.
- [53] Lange E.: Produkty owsiane jako żywność funkcjonalna. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010, **3 (70)**, 7-24.
- [54] Lis J., Orczyk-Pawilowicz M., Kątnik-Prastowska I.: Białka mleka ludzkiego zaangażowane w procesy immunologiczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013, **67**, 529-547.
- [55] Lone A.M., Nolte W.M., Tinoco A.D., Saghatelian A.: Peptidomics of the prolyl peptidases. *The AAPS J.*, 2010, **12**, 483-491.
- [56] López-Expósito I., Amigo L., Recio I.: A mini-review on health and nutritional aspects of cheese with a focus on bioactive peptides. *Dairy Sci. Technol.*, 2012, **92**, 419-438.
- [57] López-Expósito I., Recio I.: Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1294-1305.
- [58] López-Fandiño R., Recio I., Ramos M.: Egg-protein-derived peptides with antihypertensive activity. In: *Bioactive egg compounds*. Eds. Huopalahti R., López-Fandiño R., Anton M. i Schade R. Springer-Verlag, Berlin 2010, Part III, Subpart IIIa, pp. 199-211.
- [59] Liu F.-R., Wang L., Wang R., Chen Z.-Z.: Calcium-binding capacity of wheat germ protein hydrolysate and characterization of peptide-calcium complex. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 7537-7544.
- [60] Ludvigsson J.F., Leffler D.A., Bai J.C., Biagi F., Fasano A., Green P.H.R., Hadjivassiliou M., Kaukinen K., Kelly C.P., Leonard J.N., Aslaksen Lundin K.E., Murray J.A., Sanders D.S., Walker M.M., Zingone F., Ciacci C.: The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut*, 2013, **62**, 43-52.
- [61] Marczak E.D., Usui H., Fujita H., Yang Y., Yokoo M., Lipkowski A.W., Yoshikawa M.: New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. *Peptides*, 2003, **24**, 791-798.
- [62] Matsui T., Kawasaki T.: Antihypertensive effects of bioactive peptides derived from food proteins. Development of antihypertensive food with bioactive sardine muscle peptide (Val-Tyr). *J. Japanese Soc. Nutr. Food Sci.*, 2000, **53**, 2, 77-85.
- [63] Mellander O.: The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts. II. Peroral calcium dosage of infants. *Acta Soc. Med. Ups.*, 1950, **55**, 247-255.
- [64] Miguel M., Aleixandre A.: Antihypertensive peptides derived from egg proteins. *J. Nutr.*, 2006, **136**, 1457-1460.
- [65] Miguel M., López-Fandiño R., Ramos M., Aleixandre A.: Short-term effect of egg-white hydrolysate products on the arterial blood pressure of hypertensive rats. *Brit. J. Nutr.*, 2005, **94**, 731-737.
- [66] Minervini F., Algaron F., Rizello G.C., Fox P.F., Monnet V., Gobbetti M.: Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 pro-

- teinase-hydrolysed caseins of milk from six species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, **69**, 5297-5305.
- [67] Minkiewicz P., Dziuba J., Darewicz M., Iwaniak A., Dziuba M., Nałęcz D.: Food peptidomics. *Food Technol. Biotechnol.*, 2008, **46**, 1-10.
- [68] Minkiewicz P., Dziuba J., Iwaniak A., Dziuba M., Darewicz M.: BIOPEP database and other programs for processing bioactive peptide sequences. *J. AOAC Int.*, 2008, **91**, 965-981.
- [69] Minkiewicz P., Miciński J., Darewicz M., Bucholska J.: Biological and chemical databases for research into the composition of animal source foods. *Food Revs Int.*, 2013, **29**, 321-351.
- [70] Mirski T., Gryko R., Bartoszcze M., Bielawska-Drózd A., Tyszkiewicz W.: Antimicrobial peptides: new possibilities to combat infections in humans and animals. *Med. Weter.*, 2011, **67**, 517-521.
- [71] Möller N.P., Scholz-Ahrens K.E., Roos N., Schrezenmeier J.: Bioactive peptides and proteins from foods: indications for health effects. *Eur. J. Nutr.*, 2008, **47**, 171-182.
- [72] Nakashima Y., Arihara K., Sasaki A., Mio H., Ishikawa S., Itoh M.: Antihypertensive activities of peptides derived from porcine skeletal muscle myosin in spontaneously hypertensive rats. *J. Food Sci.*, 2002, **67**, 434-437.
- [73] Nongonierma A.B., FitzGerald R.J.: Inhibition of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) by proline containing casein-derived peptides. *J. Funct. Foods*, 2013, **5**, 1909-1917.
- [74] Norris R., FitzGerald R.J.: Antihypertensive peptides from food proteins. In: *Bioactive Food Peptides in Health and Disease*. Eds.: Hernández-Ledesma B., Hsieh C.-C., InTech, 2013, pp. 45-72. Dostęp w Internecie [05.04.14.]: <http://www.intechopen.com/books/bioactive-food-peptides-in-health-and-disease/antihypertensive-peptides-from-food-proteins>
- [75] Nydahl K.S., Pierson J., Nyberg F., Caprioli R.M., Andrén P.E.: *In vivo* processing of LVV-hemorphin-7 in rat brain and blood utilizing microdialysis combined with electrospray mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2003, **17**, 838-844.
- [76] Ohinata K., Agui S., Yoshikawa M.: Soymorphins, novel opioid peptides derived from soy  $\beta$ -conglycinin  $\beta$ -subunit, have anxiolytic activities. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2007, **71**, 2618-2621.
- [77] Ortiz-Sánchez J.P., Cabrera-Chávez F., Calderón de la Barca A.M.: Maize prolamins could induce a gluten-like cellular immune response in some celiac disease patients. *Nutrients*, 2013, **5**, 4174-4183.
- [78] Pedrosa M., Pascual C.Y., Larco J.I., Esteban M.M.: Palatability of hydrolysates and other substitution formulas for cow's milk-allergic children: a comparative study of taste, smell, and texture evaluated by healthy volunteers. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2006, **16**, 351-356.
- [79] Phelan M., Aherne A., FitzGerald R.J., O'Brien N.M.: Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *Int. Dairy J.*, 2009, **19**, 643-654.
- [80] Pellegrini A.: Antimicrobial peptides from food proteins. *Curr. Pharm. Des.*, 2003, **9**, 1225-1238.
- [81] Pihlanto A., Mäkinen S.: Antihypertensive properties of plant protein derived peptides. In: *Bioactive Food Peptides in Health and Disease*. Eds. Hernández-Ledesma B., Hsieh C.C. InTech, 2013, pp. 144-182. Dostęp w Internecie [05.04.14.]: <http://www.intechopen.com/books/bioactive-food-peptides-in-health-and-disease/antihypertensive-properties-of-plant-protein-derived-peptides>
- [82] Pokora M., Zambrowicz A., Dąbrowska A., Eckert E., Setner B., Szoltyś M., Szewczuk Z., Zabłocka A., Polanowski A., Trziszka T., Chrzanowska J.: An attractive way of egg white protein by-product use for producing of novel anti-hypertensive peptides. *Food Chem.*, 2014, **151**, 500-505.
- [83] Praticò D.: Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2008, **29**, 609-615.
- [84] Reichelt K.L., Knivsberg A. M.: Can the pathophysiology of autism be explained by the nature of the discovered urine peptides? *Nutr. Neurosci.*, 2003, **6**, 19-28.
- [85] Rutherford-Markwick K.J., Moughan P.J.: Bioactive peptides derived from food. *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 955-966.

- [86] Ryan J.T., Ross R.P., Bolton D., Fitzgerald G.F., Stanton C.: Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients*, 2011, **3**, 765-791.
- [87] Saiga A., Tanabe S., Nishimura T.: Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3661-3667.
- [88] Sarmadi B.H., Ismail A.: Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides*, 2010, **31**, 1949-1956.
- [89] Schindler A., Dunkel A., Stähler F., Backes M., Ley J., Meyerhof W., Hofmann T.: Discovery of salt taste enhancing arginyl dipeptides in protein digests and fermented fish sauces by means of a sensomics approach. *J. Agric. Food Chem.*, 2011, **59**, 12578-12588.
- [90] Segura-Campos M., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., Hernandez-Escalante V.M.: Bioavailability of bioactive peptides. *Food Rev. Int.*, 2011, **27**, 213-226.
- [91] Severance E.G., Alaedini A., Yang S., Halling M., Gressitt K.L., Stallings C.R., Origoni A.E., Vaughan C., Khushalani S., Leweke F.M., Dickerson F.B., Yolken R.H.: Gastrointestinal inflammation and associated immune activation in schizophrenia. *Schizophrenia Res.*, 2012, **138**, 48-53.
- [92] Shahidi F., Zhong Y.: Bioactive peptides. *J. AOAC Int.*, 2008, **91**, 914-931.
- [93] 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.
- [94] Shaji J., Patole V.: Protein and peptide drug delivery: oral approaches. *Indian J. Pharm. Sci.*, 2008, **70**, 269-277.
- [95] Shan L., Molberg Ø., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G.M., Sollid L.M., Khosla C.: Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*, 2002, **297**, 2275-2279.
- [96] Sienkiewicz-Szlapka E., Jarmołowska 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**, 252-257.
- [97] Silva S.V., Malcata X.: Caseins as source of bioactive peptides. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 1-15.
- [98] Sokołowska A., Bednarz R., Pacewicz M., Georgiades J., Wilusz T., Polanowski A.: Colostrum from different mammalian species – A rich source of colostrinin. *Int. Dairy J.*, 2008, **18**, 204-209.
- [99] Szołtyś M., Niedbalska J., Dąbrowska A., Kupczyński R., Zambrowicz A., Pokora M., Babij K., Chrzanowska J.: Zastosowanie enzymatycznej hydrolizy kazeiny do otrzymywania peptydów o aktywności przeciwutleniającej. *Przem. Chem.*, 2012, **91**, 1014-1019.
- [100] Temussi P.A.: The good taste of peptides. *J. Pept. Sci.*, 2012, **18**, 73-82.
- [101] Thomä-Wörringer C., Sørensen J., López-Fandiño R.: Health effects and technological features of caseinomacropeptide. *Int. Dairy J.*, 2006, **16**, 1324-1333.
- [102] Tomita M., Wakabayashi H., Yamauchi K., Teraguchi S., Hayasawa H.: Bovine lactoferrin and lactoferricin derived from milk: Production and applications. *Biochem. Cell. Biol.*, 2002, **80**, 109-112.
- [103] Torres-Fuentes C., Alaiz M., Vioque J.: Iron-chelating activity of chickpea protein hydrolysate peptides. *Food Chem.*, 2012, **134**, 1585-1588.
- [104] Ueta E., Tanida T., Osaki T.: A novel bovine lactoferrin peptide, FKCRRWQWRM, suppresses *Candida* cell and activates neutrophils. *J. Pept. Res.*, 2001, **57**, 240-249.
- [105] Van der Kraan M.I., Groenink J., Nazmi K., Veerman E.C., Bolscher J.G., NieuwAmerongen A.V.: Lactoferrampin – novel antimicrobial peptide in the N1-domain of bovine lactoferrin. *Peptides*, 2004, **25**, 177-183.
- [106] Vojdani A., Tarash I.: Cross-reaction between gliadin and different food and tissue antigens. *Food Nutr. Sci.*, 2013, **4**, 20-32.
- [107] Wilson J., Hayes M., Carney B.: Angiotensin-I-converting enzyme and prolyl endopeptidase inhibitory peptides from natural sources with a focus on marine processing by products. *Food Chem.*, 2011, **129**, 235-244.
- [108] Yanai T., Suzuki Y., Sato M.: Prolylendopeptidase inhibitory peptides in wine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 2003, **67**, 380-382.
- [109] Yoshikawa M., Takahashi M., Yang S.: Delta opioid peptides derived from plant proteins. *Curr. Pharmaceut. Design.*, 2003, **9**, 1325-1330.

- [110] Zambrowicz A., Timmer M., Polanowski A., Lubec G., Trziszka T.: Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. *Amino Acids*, 2013, **44**, 315-320.
- [111] Zhang J.H., Tatsumi E., Ding C.H., Li L.T.: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides in douchi, a Chinese traditional fermented soybean product. *Food Chem.*, 2006, **98**, 551-557.
- [112] Zhao Q., Garreau I., Sannier F., Piot J.M.: Opioid peptides derived from hemoglobin: hemorphins. *Biopolymers*, 1997, **43**, 75-98.
- [113] Zucht H.D., Raida M., Adermann K.J., Forssman W.G., Casocidin I.: A casein- $\alpha_{s2}$  derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Lett.*, 1995, **372**, 185-188.

## BIOLOGICALLY ACTIVE PEPTIDES RELEASED FROM FOOD PROTEINS

### Summary

Food proteins are characterized by many nutritional and biological properties. The biologically active peptides are fragments of amino acid sequences of food proteins that become active upon release. Usually, they are released during the processes of gastrointestinal digestion and fermentation (through proteolytic activity of micro-organisms), or during the *in vitro* enzymatic processes and, then, they can affect human health. A number of bioactive peptides were isolated from food proteins including the following: angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors, antioxidants, antimicrobial peptides as well as antiemetic, opioid, sensory, and micro-minerals binding peptides. Furthermore, those peptides are studied, which adversely affect human health, e.g. toxic to people with coeliac disease. Currently, research studies are carried on to identify new sources of bioactive peptides, to specify methods of producing them, and to determine their bioavailability, biological properties, and mechanisms of action. In the paper, there are discussed the methods of producing bioactive peptides from food proteins as are some selected types of their biological activity and their bioavailability.

**Key words:** food proteins, bioactive peptides, structure of bioactive peptides, bioavailability ☒