

Białka jaja kurzego: prekursory bioaktywnych peptydów*)

ALEKSANDRA ZAMBROWICZ, MONIKA ŻELAZKO, TADEUSZ TRZISZKA

Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością Wydziału Nauk o Żywności UP,
ul. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław

Zambrowicz A., Żelazko M., Trziszka T.

Hen egg proteins: precursors of bioactive peptides

Summary

Biologically active peptides are of particular interest to food science and nutrition because they may act as potential physiological modulators of metabolism. Hidden or inactive in the amino-acid sequence of food proteins, they can be released or activated in vivo during gastrointestinal digestion, or in vitro during enzymatic hydrolysis and food processing. Egg proteins are an important source of these bioactive peptides. In recent years, major egg protein components, ovalbumin, conalbumin, ovomucin and phosvitin, have also been shown to contain bioactive sequences. Peptides showing antiadhesive, anticancer as well as immunomodulatory activities were found in ovomucin sequence. Immunoregulative peptides were also found in peptic and chymotryptic hydrolysates of ovalbumin. Ovocinin and ovocinin(2-7) – angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides, whose pharmacological activity was observed in micromolar concentrations – were liberated during in vitro proteolysis of ovalbumin. Furthermore, many egg protein hydrolysates showed antimicrobial and antioxidant activity after proteolysis with different enzymes, and several active peptides were isolated and identified.

Keywords: bioactive peptides, hydrolysis, antioxidant activity, antimicrobial activity

Dieta pełni znaczącą rolę w kształtowaniu kondycji zdrowotnej organizmu. Przykładem substancji wywierających różne efekty zdrowotne są bioaktywne peptydy uwalniane z białek żywnościowych pod wpływem działania enzymów proteolitycznych (13). Wyróżnia się: peptydy opiatowe, peptydy o aktywności immunostymulującej, obniżającej ciśnienie krwi, hamujące agregację płytek krwi, peptydy o aktywności przeciwutleniającej, przeciwdrobnoustrojowej oraz peptydy nośniki jonów metali (13, 30). Określona aktywność peptydów uwarunkowana jest rodzajem i lokalizacją reszt aminokwasowych zawartych w ich pierwszorzędowej strukturze (32). Prekursorami biopeptydów mogą być białka żywnościowe, zarówno pochodzenia zwierzęcego, takie jak białka mleka (kazeina, białka serwatkowe) czy białka mięśni (miozyna, kolagen), jak i roślinnego: białka soi (glicynina, β -konglicynina) i białka pszenicy (10, 15, 21, 23, 24, 38, 39). Bogatym źródłem bioaktywnych peptydów, których właściwości stanowią temat niniejszego opracowania, są także białka jaja kurzego (35, 41).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

Lizozym jest czynnikiem bakteriobójczym. Jako mukopeptyd-N-acetylomuramyl-hydrolaza rozkłada wiązania β -1-4-glikozydowe peptydoglikanu, znajdującego się w ścianie komórkowej bakterii G⁺ (11, 14, 25, 40). Białko to poddane hydrolizie nabywa przeciwdrobnoustrojową, nieenzymatyczną aktywność, której spektrum działania obejmuje także bakterie G⁻ (18, 34). W wyniku hydrolitycznego działania klostry-painy z lizozymu uwalniany jest peptyd odpowiadający fragmentowi: (f 98-112) białka (35). Jest on częścią domeny o strukturze: helisa-pętla-helisa (f 87-114), tworzącej szczelinę, w której zlokalizowane jest centrum aktywne lizozymu. Aktywność tego peptydu powiązana jest z obecnością motywu helisa-pętla-helisa powszechnie występującej w białkach oddziałujących z membraną i w białkach wiążących DNA (16-18, 35). Aktywność antymikrobiologiczną wobec bakterii G⁺ (*Staphylococcus aureus*), jak i G⁻ (*Escherichia coli*) wykazują także peptydy generowane z dwóch innych fragmentów lizozymu: (f 98-108) i (f 15-21) (29). Częściowa hydroliza natywnego lizozymu pepsyną też pro-

*) Badania finansowane przez MNSzW w ramach projektu nr NN 209275035.

wadzi do uzyskania mieszaniny peptydów (LzP) wykazującej aktywność wobec bakterii rodzaju *Bacillus* (1). Preparat ten, zachowując 11% aktywności mukopeptydylo-N-acetylomuramyl-hydrolazy, całkowicie hamuje wzrost szczepów: *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. mycoides*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. polymexa* i *B. macerans*. Pod wpływem ogrzewania przez 30 min. w temperaturze 95°C, w zakresie pH od 4,5 do 7 hydrolizat LzP zachowuje aktywność. Dzięki tym właściwościom preparat LzP może znaleźć zastosowanie jako naturalny konserwant w żywności (1). Prekursorem przeciwdrobnoustrojowo aktywnych peptydów jest także owoalbumina, główne białko jaja. Trypsyna bydlęca prowadzi do uwolnienia z tego białka m.in. penta-, heksa- i oktapeptydów ((Ser-Ala-Leu-Ala-Met (f 36-40), Ser-Ala-Leu-Ala-Met-Val-Tyr (f 36-42), Tyr-Pro-Ile-Pro-Glu-Tyr-Leu-Gln (f 111-119), Glu-Leu-Ile-Asn-Ser-Trp (f 143-148), Asn-Val-Leu-Gln-Pro-Ser-Ser (f 159-165)), wykazujących silną aktywność bakterio-bójczą wobec bakterii *Bacillus subtilis* BGA. Bakterie te okazały się także wrażliwe na działanie innych peptydów: Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu-Ile-Glu-Tyr-Leu (f 127-138), Gly-Ile-Ile-Arg-Asn (f 155-159) i Thr-Ser-Ser-Asn-Val-Met-Glu-Glu-Arg (f 268-276), uwolnionych z tego samego białka pod wpływem chymotrypsyny bydlęcej (33). Przeciwdrobnoustrojowa aktywność peptydów, szczególnie w stosunku do bakterii G⁻ wynika z ich zdolności do wiązania się z lipopolisacharydami ściany komórkowej. W wyniku agregacji peptydów w błonie cytoplazmatycznej powstają kanały powodujące jej destabilizację, co w rezultacie prowadzi do śmierci komórki. Inny mechanizm działania niektórych peptydów polega na ich przejściu przez membranę do cytoplazmy i łączeniu się z DNA (2, 4, 37). Obecność w sekwencji peptydów takich aminokwasów, jak tryptofan i arginina wzmacnia ich aktywność antymikrobiologiczną. Tryptofan obecny w peptydzie wykazuje powinowactwo do błony komórkowej, sprzyja fałdowaniu się peptydów w roztworach wodnych, umożliwiając im przyjęcie struktury amfifilowej, niezbędnej przy transporcie przez błonę cytoplazmatyczną. Arginina natomiast nadaje peptydom ładunek dodatni, tworzy wiązania wodorowe z anionowymi składnikami błony komórkowej, co umożliwia oddziaływanie peptyd-błona cytoplazmatyczna (2, 37). Podobny efekt bakteriocyden przypisywany jest 9,9 kDa fragmentowi (f 109-200) konalbuminy (OTAP 92), aktywnemu wobec bakterii G⁺ i G⁻. Peptyd OTAP 92, podobnie jak peptydy uwalniane pod wpływem pepsyny z laktoferyny mleka krowiego lub jak bakteriocyden peptydy powstające podczas hydrolizy zasadowego inhibitora trypsyny trzustki przez klosrtypainę, pochodzi z N-końcowego fragmentu łańcucha polipeptydowego i ma kationowy charakter (4, 11, 17). Peptyd OTAP-92 posiada trzy wiązania dwusiarczkowe, z których dwa

zaangażowane są w stabilizację struktury pastorału. W strukturze tej zidentyfikowano dwie reszty tryptofanu zlokalizowane w rejonie α -helikalnym, odpowiedzialnym za oddziaływanie z membraną komórkową. Budowa tego fragmentu jest charakterystyczna dla białek oddziałujących z lipidami membrany cytoplazmatycznej. Domena ta pełni rolę regulatora aktywności proteolitycznej oraz mediatora wiążącego się z komponentami ściany komórkowej bakterii, białkami i fosfolipidami. Podobny motyw występuje także w owdzich defensynach (16-18, 26). Peptyd OTAP-92 jest także czynnikiem antywirulentnym, skutecznym w uniemożliwieniu wirusa choroby Mareka u kurcząt (26).

Aktywność przeciwadhezyjna

Pierwszym etapem infekcji jest adhezja bakterii i wirusów na powierzchni komórek nabłonka, który stanowi barierę chroniącą organizm przed czynnikami zewnętrznymi. W procesie tym niezbędne jest wiązanie się bakteryjnych adhezyn z łańcuchami oligosacharydów zlokalizowanymi na powierzchni komórek nabłonka. Warunkuje to dalsze przenikanie bakterii do wnętrza komórki (26, 36). Niektóre peptydy mogą być konkurencyjne w stosunku do oligosacharydów i blokować aktywne centra bakterii, uniemożliwiając im wiązanie się z powierzchnią komórek gospodarza. Kobayashi i wsp. (22) wykazali, że taki sam efekt wywierają peptydy uwolnione pod wpływem działania enzymatycznego preparatu Pronase z owomucyny jaja kurzego. Te wysoko glikozyłowane produkty, nazywane ovomucin glykopeptides (OGP), dzięki obecności specyficznego miejsca wiązania zawierającego kwas sialowy, wykazują silne właściwości wiązania komórek bakterii *Escherichia coli* O157:H7 (26, 42). Glikopeptydy te posiadają także silną aktywność wiązania się z paramyksowirusem wywołującym chorobę Newcastle oraz aktywność przeciwwirusową wobec bydlęcego rotawirusa i wirusa grypy (26, 42).

Aktywność immunostymulująca

Cytokiny mają kluczowe znaczenie w układzie immunologicznym (26). Są to rozpuszczalne białka wpływające na wzrost, proliferację i pobudzenie komórek biorących udział w odpowiedzi odpornościowej oraz komórek hemopoetycznych (19, 26). Interesujące właściwości immunoregulatorowe, wpływające między innymi na indukcję komórek T, pobudzających wydzielanie cytokin: interleukin- (IL) 4, IL-10, IL-13, interferon- (IFN) gamma i IL-6, posiadają peptydy, których białkiem prekursorowym jest owomukoid. Peptydy te otrzymano na drodze chemicznej syntezy (SPPS) (26). Immunostymulujące peptydy stwierdzono w hydrolizatach pepsynowych (heptapeptyd: (f 77-84)) i chymotrypsynowych (oktapeptyd: (f 126-134)) owoalbuminy. Stymulują one aktywność fagocytarną makrofagów, podobnie jak peptydy aktywne *in vitro*, uwolnione z owomucyny (26).

Aktywność przeciwnowotworowa

Szczególne zainteresowanie budzą peptydy wykazujące aktywność przeciwnowotworową. Przykładem są oligopeptydy o masach: 220 i 120 kDa, pochodzące z owomucyny. Podanie myszom bezpośrednio do guzów mniejszego peptydu zawierającego zarówno kwas sialowy, jak i w formie pozbawionej tego kwasu, efektywnie wpłynęło na zahamowanie ich wzrostu. Dowodzi to, że aktywność przeciwnowotworowa prawdopodobnie nie jest związana tylko z obecnością aktywnego centrum (zawierającego kwas sialowy) charakterystycznego dla tej grupy oligopeptydów (43).

Aktywność przeciwutleniająca

Wolne rodniki są to molekuly posiadające niesparowany elektron, charakteryzujące się zdolnością do reagowania z różnymi cząsteczkami, takimi jak: białka, lipidy i DNA (44). Ich wysoka reaktywność spowodowana jest dążeniem do osiągnięcia stabilnej formy poprzez przyłączanie brakującego elektronu. Przeciwutleniacze są substancjami zapobiegającymi tym reakcjom. Mechanizm ich działania jest zróżnicowany. Jedne powodują przerywanie łańcucha autooksydacji przez dostarczenie atomu wodoru i konwersję wolnych rodników do bardziej stabilnych form, inne natomiast rozkładają nadtlenki drogą nierodnikową bądź zmiatają tlen lub też wygaszają jego singletową formę (7). Aktywność przeciwutleniająca peptydów uwarunkowana jest masą oraz rodzajem i pozycją reszt aminokwasowych zawartych w strukturze (32). Wynika ona między innymi ze zdolności aromatycznych aminokwasów (tyrozyny, tryptofanu i histydyny) do łatwego odszczepiania wodoru, będącego donorem elektronu dla wolnego rodnika dążącego do przyjęcia stabilnej formy poprzez ich sparowanie (32). W większości przeciwutleniających peptydów znajduje się strategiczna strefa obejmująca wyżej wymienione reszty aminokwasowe. Trzy antyoksydacyjne peptydy wyizolowane z hydrolizatu owoalbuminy zawierają w drugiej pozycji sekwencji reszty histydyny (41). Także posiadające reszty aromatyczne dwa peptydy otrzymane pod wpływem preparatu proteolitycznego Alcalase z białek żółtka wykazują zdolność hamowania reakcji utleniania kwasu linolowego (32). Złożone są one z 10 i 15 aminokwasów o pierwszorzędowej strukturze, odpowiednio: Leu-Met-Ser-Tyr-Met-Trp-Ser-Thr-Ser-Met i Leu-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Arg-Ser-Ser-His-Trp-Phe-Ser-Arg-Arg. Charakterystyczną cechą tych peptydów jest obecność reszty leucyny w pozycji N-końcowej, warunkującej ich bioaktywność (32). Taki sam efekt przeciwutleniający wywiera preparat złożony z frakcji peptydów o masach cząsteczkowych nie przekraczających 1 kDa, otrzymany w wyniku proteolitycznego działania bakteryjnych enzymów (*Bacillus sp.*) na białka żółtka. Kolejnymi peptydami wykazującymi przeciwutleniającą aktywność są peptydy: Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe-Leu i Tyr-Ala-

-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu uwolnione z owoalbuminy pod wpływem pepsyny, które wykazują zdolność zmiatania wolnych rodników AAPH (6). Podobną aktywność przeciwutleniającą wobec rodników 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazylowych (DPPH) obserwowano dla peptydów uwolnionych z białkowych ubocznych produktów, otrzymanych w procesie izolacji lizozymu i cystatyny z białka jaja (12). Natomiast hydroliza foswityny trypsyną wołową prowadzi do uzyskania frakcji peptydowych o zdolności hamowania utleniania kwasu linolowego, wymiatania wolnych rodników DPPH oraz chelatowania jonów żelaza (II). Peptydy te charakteryzują się wysoką zawartością fosforu oraz aminokwasów, takich jak: histydyna, metionina i tyrozyna (45). Wykazano, że produkty z foswityny, hamując zależną od jonów żelaza reakcję powstawania najbardziej reaktywnych wolnych rodników hydroksylowych, wykazują właściwości ochronne wobec DNA. Tym samym białko to i jego peptydy rozpatrywane są jako czynniki zapobiegające występowaniu chorób wywołanych stresem oksydacyjnym, takich jak: rak jelita grubego, choroba Alzheimera czy choroba Parkinsona (26).

Peptydy nośniki jonów metali

Z żywieniowego punktu widzenia istotne znaczenie mają peptydy wiążące jony metali. Peptydy zassocjowane z mikroelementami mogą służyć jako nośniki, ułatwiając ich absorpcję. Wynika to z obecności w układzie pokarmowym specyficznych systemów transportujących krótkie peptydy (5). Właściwością wiązania jonów metali charakteryzują się między innymi fosfopeptydy uwalniane pod wpływem trypsyny z foswityny (3, 20). Podobnie jak fosfopeptydy, uwalniane z kazein mleka krowiego, fosfopeptydy pochodzące z foswityny charakteryzują się dużą zawartością fosfoseryny, która umożliwia wiązanie jonów dwuwartościowych wapnia. W takiej formie są najlepiej przyswajane przez organizm (3, 4, 20). Peptydy te najprawdopodobniej znajdują największe wykorzystanie w technologii żywności jako dodatki dietetyczne i odżywcze ze szczególnym przeznaczeniem dla osób cierpiących na osteoporozę.

Aktywność przeciwhipertensyjna

Aktualnie spośród nasilających się chorób cywilizacyjnych, wynikających między innymi z niezdrowego stylu życia najczęstsze są choroby układu krążenia. Nadciśnienie tętnicze krwi jest jedną z nich. Peptydy antyhipertensyjne mogą być naturalnymi związkami farmakologicznymi. Hamują one aktywność ACE (konwertazy angiotensyny I), która jako peptydylo-dipeptydaza odszczepia z angiotensyny I (dekapeptyd: DRVYIHPFHL) C-terminalny dupeptyd, powodując tym samym jej przekształcenie do angiotensyny II, podwyższającej ciśnienie krwi. Inaktywacja tego enzymu przez inhibitory oznacza stymulację bradykininy obniżającej ciśnienie krwi. Najbogatsze prekursorzy pep-

tydów przeciwnadciśnieniowych to: krowia kazeina, prolaminę ryżu i albumina jaja (4, 28). Zarówno fragmenty bioaktywne, jak i ich otoczenie są hydrofilowe i przeważnie zlokalizowane we fragmentach struktury nieuporządkowanej białek (4). Najlepiej poznanymi antyhipertensyjnymi peptydami pochodzącymi z białek jaja są: owokinina, stanowiąca fragment (f358-365) owoalbuminy, uwolniony pod wpływem pepsyny (8) oraz uwolniona z białka prekursorowego pod wpływem chymotrypsyny owokinina (2-7) różniąc się od poprzedniego brakiem pojedynczych reszt w N- i C-końcu (26). Oba peptydy wykazują zdolność obniżania ciśnienia tętniczego krwi u szczurów z nadciśnieniem, a ich efektywność uzależniona jest od wielkości stosowanej dawki (9). Aktualnie drogą syntezy możliwe jest projektowanie peptydów, które wywarłyby pożądaną efekt fizjologiczny. Przykładem może być podstawienie reszty fenyloalaniny znajdującej się w pozycji C-końcowej pierwszorzędowej sekwencji owokininy (2-7) tryptofanem, co pozwoliło na uzyskanie peptydu wykazującego ponad 100-krotnie wyższą aktywność antyhipertensyjną (27, 46). Kolejne dwa peptydy (f183-184) i (f200-218), wykazujące aktywność inhibitorową wobec enzymu ACE, wyizolowali Yoshikawa i Fujita (48) z pepsynowych i trypsynowych hydrolizatów owoalbuminy. Z kolei hydroliza pepsyną całego białka jaja prowadzi do uzyskania owokininy i owokininy (2-7) oraz peptydów o sekwencji: Arg-Ala-Asp-His-Pro-Phe-Leu i Tyr-Ala-Glu-Glu-Arg-Tyr-Pro-Ile-Leu (31). Przykładem przeciwnadciśnieniowych peptydów mogą być oligopeptydy uwolnione z żółtka pod wpływem działania enzymatycznego preparatu proteolitycznego Newlase F otrzymanego z grzybów *Rhizopus* (47).

Podsumowanie

Bioaktywne peptydy nieustannie powstają w organizmie i pełnią funkcje regulujące we wszystkich jego układach. Peptydy o pożądaną aktywność uwalniane są też *in vitro* w procesach hydrolizy enzymatycznej, a ich prekursorami są między innymi białka żywnościowe. Białka jaja są bogatym źródłem peptydów wykazujących m.in. aktywność antymikrobiologiczną, przeciwutleniającą, immunostymulującą i antyhipertensyjną. Peptydy te mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle żywnościowym jako naturalne substancje zapobiegające niepożądanym (mikrobiologicznym i chemicznym) przemianom składników żywności oraz jako składniki nutraceutyków, farmaceutycznym i kosmetycznym. Dzięki dynamicznemu rozwojowi chemicznych i biologicznych metod stosowanych w celu określenia biologicznej aktywności odkryto wiele nowych peptydów aktywnych *in vitro*. Niestety, jednym z problemów dotyczącym efektywności biopeptydów jest ich doustna aplikacja. Dostając się do krwiobiegu muszą pokonać naturalne bariery organizmu, jakimi są: silnie kwaśne środowisko, pepsyna i enzymy trzustkowe oraz absorpcja jelita (11).

Piśmiennictwo

1. Abdou A. M., Higashiguchi S., Aboueleinin A. M., Kim M., Ibrahim H. R.: Antimicrobial peptides derived from hen egg lysozyme with inhibitory effect against *Bacillus* species. *Food Control*. 2007, 18, 173-178.
2. Chan D. I., Prenner E. J., Vogel H. J.: Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: Structures and mechanisms of action. *Biochim. Biophys. Acta* 2006, 1758, 1184-1202.
3. Choi I., Jung C., Choi H., Kim C., Ha H.: Effectiveness of phosvitin peptides on enhancing bioavailability of calcium and its accumulation in bones. *Food Chem.* 2005, 93, 577-583.
4. Chrzanowska J.: Enzymatyczne modyfikacje białek mleka. *Technologia Żywności*. XII Zesz. Nauk. AR Wrocław 1998, 328, 23-37.
5. Clemente A.: Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends Food Sci. Tech.* 2000, 11, 254-262.
6. Davalós A., Migiel M., Bartolome B., López-Fandiño R.: Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *J. Food Prot.* 2004, 67, 1939-1944.
7. Flaczyk E.: Właściwości przeciwtłuszczeniowe enzymatycznych i kwasowych hydrolizatów białkowych ze szczególnym uwzględnieniem ich aktywności wobec cholesterolu. *Rocz. AR, Poznań* 2005, 361, 1-39.
8. Fujita H., Sasaki R., Yoshikawa M.: Potentiation of the antihypertensive activity of orally administered ovokin, a vasorelaxing peptide derived from ovalbumin, by emulsification in egg phosphatidylcholine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1995, 59, 2344-2345.
9. Fujita H., Usui H., Kurahashi K., Yoshikawa M.: Isolation and characterization of ovokin, a bradykinin B1 agonist peptide derived from ovalbumin. *Peptides* 1995, 16, 785-790.
10. Gibbs B. F., Zougan A., Masse R., Mulligan C.: Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. *Food Res. Int.* 2004, 37, 123-131.
11. Gołab K., Warwas M.: Białka jaja kurzego – właściwości biochemiczne i zastosowania. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2005, 14, 1001-1010.
12. Graszewicz A., Żelazko M., Trziszka T., Polanowski A.: Antioxidative capacity of hydrolysates of hen egg proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2007, 57, 195-199.
13. Hartman R., Miesel H.: Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Cur. Opin. Biotechnol.* 2007, 18, 163-169.
14. Houpalahti R., Lopez-Fandino R., Anton M., Schade R.: *Bioactive Egg Compounds*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2007.
15. Ibrahim H. R., Iwamori E., Sugimoto Y., Aoki T.: Identification of a distinct antibacterial domain within the N-lobe of ovotransferrin. *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1401, 289-303.
16. Ibrahim H. R., Haraguchi T., Aoki T.: Ovotransferrin is a redox-dependent autoprocessing protein incorporating four consensus self-cleaving motifs flanking the two kringles. *BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA* 2006, 1760, 347-355.
17. Ibrahim H. R., Sugimoto Y., Aoki T.: Ovotransferrin antimicrobial peptide (OTAP-92) kills bacteria through a membrane damage mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 2000, 1523, 196-205.
18. Ibrahim H. R., Thomas U., Pellegrini A.: A helix-loop peptide at the upper lip of the active site cleft of lysozyme confers potent antimicrobial activity with membrane permeabilization action. *J. Biological Chem.* 2001, 276, 43767-43774.
19. Jakóbsiak M.: *Immunologia*. PWN, Warszawa 1995.
20. Jiang B., Mine Y.: Preparation of novel functional oligophosphopeptides from hen egg yolk phosvitin. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 990-994.
21. Kim S. B., Seo I. S., Khan M. A., Ki K. S., Nam M. S., Kim H. S.: Separation of iron-binding protein from whey through enzymatic hydrolysis. *Int. Dairy J.* 2007, 17, 625-631.
22. Kobayashi K., Hattori M., Hara-Kudo Y., Okubo T., Yamamoto S., Takita T., Sugita-Konishi Y.: Glycopeptide derived from hen egg ovomucin has the ability to bind enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 5740-5746.
23. Kong X., Zhou H., Qian H.: Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. *Food Chem.* 2007, 102, 759-763.
24. Li B., Chen F., Wang X., Ji B., Wu Y.: Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chem.* 2007, 102, 1135-1143.
25. Malinowska-Pańczyk E., Kołodziejska I.: Wpływ połączonego działania wysokiego ciśnienia i innych czynników na mikroorganizmy. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 515-518.
26. Matoba N., Usui H., Fujita H., Yoshikawa M.: A novel anti-hypertensive peptide derived from ovalbumin induces nitric oxide-mediated vasorelaxation in a isolated SHR mesenteric artery. *FEBS Lett.* 1999, 452, 181-184.

27. Matoba N., Yamada Y., Usui H., Nakagiri R., Yoshikawa M.: Designing potent derivatives of ovokinin(2-7), an anti-hypertensive peptide derived from Ovalbumin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2001, 65, 736-739.
28. Miguel M., Aleixandre A.: Antihypertensive peptides derived from egg proteins. *J. Nutr.* 2006, 136, 1457-1460.
29. Mine Y., Kovacs-Nolan J.: Biologically active hen egg components in human health and disease. *J. Poult. Sci.* 2004, 41, 1-29.
30. Mine Y., Kovacs-Nolan J.: New insights in biologically active proteins and peptides derived from hen egg. *World Poult. Sci. J.* 2006, 62, 87-95.
31. Miquel M., Recio I., Gomez-Ruiz J. A., Ramos M., Lopez-Fandino R.: Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. *J. Food Prot.* 2004, 67, 1914-1920.
32. Park P. J., Jung W. K., Nam K. S., Shahidi F., Kim S. K.: Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2001, 78, 651-656.
33. Pellegrini A., Hüllsmeier A. J., Hunziker P., Thomas U.: Proteolytic fragments of ovalbumin display antimicrobial activity. *Biochim. Biophys. Acta* 2004, 1672, 76-85.
34. Pellegrini A., Thomas U., Bramaz N., Klauser S., Hunziker P., Von Fellenberg R.: Identification and isolation of a bactericidal domain in chicken egg white lysozyme. *J. Appl. Microbiol.* 1997, 82, 372-378.
35. Pellegrini A., Thomas U., Wild P., Schraner E., Von Fellenberg R.: Effect of lysozyme or modified lysozyme fragments on DNA and RNA synthesis and membrane permeability of *E. coli*. *Microbiol. Res.* 2000, 155, 69-77.
36. Pol J., Buczkowska-Radlińska J., Bińczak-Kuleta A., Trusewicz M.: Mucyny śliny ludzkiej – ich rola i znaczenie. *Rocz. Pomorskiej AM w Szczecinie*, Szczecin 2007, 53, 87-91.
37. Powers J. P. S., Hancock R. E. W.: The relationship between peptide structure and antibacterial activity. *Peptides* 2007, 24, 1681-1691.
38. 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.
39. Silva S. V., Malcata F. X.: Caseins as source of bioactive peptides. *Int. Dairy J.* 2005, 15, 1-15.
40. Trziszka T.: Jajczarstwo, Nauka, Technologia. Wyd. Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław 2000.
41. Tsuge N., Eikawa Y., Nomura Y., Yamamoto M., Sugisawa K.: Antioxidative activity of peptides prepared by enzymatic hydrolysis of egg white albumin. *Nippon Nogeikagaku Kuishi* 1991, 65, 1635-1641.
42. Tsuge Y., Shimoyamada M., Watanabe K.: Structural Features of Newcastle Virus- and Anti-Ovomucin Antibody- Winding Glycopeptides from Pronase-Treated Ovomucin. *J. Agric. Food Chem.* 1997, 45, 4629-4634.
43. Watanabe K., Tsuge Y., Shimoyamada M., Ogama N., Ebina T.: Antitumor effects of pronase-treated fragments, glycopeptides, from ovomucin in hen egg white in a double grafted tumor system. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 3033-3038.
44. Wierzbna T. H.: Nieoczekiwane niepowodzenia prób klinicznych z antyoksydantami. *Kardiologia Pol.* 2005, 63, 472-482.
45. Xu X., Katayama S., Mine Y.: Antioxidant activity of tryptic digest of hen egg yolk phosvitin. *J. Sci. Food Agric.* 2007, 87, 2604-2608.
46. Yamada Y., Matoba N., Usui H., Onishi K., Yoshikawa M.: Design a highly potent anti-hypertensive peptide based on ovokinin(2-7). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2002, 66, 1213-1217.
47. Yoshii H., Tachi N., Ohba R., Sakamura O., Takeyama H., Itani T.: Anti-hypertensive effect of ACE inhibitory oligopeptides from chicken egg yolks. *Comp. Biochem. Physiol.* 2001, 128 (C), 27-33.
48. Yoshikawa M., Fujita H.: Studies on the optimum conditions to utilize biologically active peptides derived from food proteins, [w:] Yano T., Matsuno R., Nakamura K.: *Developments in Food Engineering*. Blackie Academic and Professional, New York 1994, 1053-1055.

Adres autora: dr inż. Aleksandra Zambrowicz, ul. Norwida 25/27, 50-375 Wrocław; e-mail: graskiewicz@o2.pl