

## Enzymová proteolýza sójovej odtučnenej múky

MARTINA HRČKOVÁ - JAROSLAV ZEMANOVIČ - MONIKA RUSŇÁKOVÁ

**SÚHRN.** Uskutočnila sa enzymová hydrolýza sójovej odtučnenej múky za prítomnosti exoproteinázy produkovanej *Aspergillus oryzae*. Boli skúmané dva rôzne prídavky enzýmu. Hydrolýza prebiehala pri teplote 40 °C, pH 7,0, bez ďalšej úpravy pH a bez miešania. Pri hydrolýze 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky sa menil pomer uvoľneného tyrozínu k celkovým uvoľneným aminokyselinám v závislosti od použitej koncentrácie enzýmu a času hydrolýzy. V konečných hydrolyzátoch mali dominantné zastúpenie aminokyseliny arginín, leucín, tyrozín, fenylalanín a histidín. Po 8 hodinách hydrolýzy v prítomnosti použitej exoproteázy došlo k úplnému zhydrolyzovaniu  $\beta$ -konglycinínu a kyslého polypeptidu (A) glycinínu sóje pri oboch použitých koncentráciách enzýmu.

**KLÚČOVÉ SLOVÁ:** enzymová hydrolýza; exoproteináza; sójová odtučnená múka; proteíny

Proteíny sú veľmi dôležitou súčasťou potravy človeka. Svojím zložením, hlavne obsahom esenciálnych aminokyselín, prispievajú k výživovej hodnote potravín [1]. Obsah aminokyselín je dôležitý aj z hľadiska funkčných vlastností proteínov, ktoré ovplyvňujú parametre potraviny. Medzi funkčné vlastnosti patrí penivosť, rozpustnosť, emulgovateľnosť a hydrofobicitu, viskozita, tvorba gélu a viazanie tuku a vody. Enzymová hydrolýza proteínov sa uskutočňuje pri miernej teplote a neutrálnom alebo mierne kyslom pH. Podmienky hydrolýzy sa zvyčajne volia podľa použitého substrátu, vlastností enzýmu a žiadanému produktu [2]. Teplota a pH, ktoré je vhodné pri konkrétnej hydrolýze sa stanovujú podľa aktivity enzýmu. Niektorí autori uvádzajú úpravu pH v hydrolyzačnej sústave na optimálne pH len pred začiatkom hydrolýzy a počas hydrolýzy sa pH ďalej nereguluje [3]. V bežných potravinárskych technológiach je pridávanie kyselín alebo zásad za účelom udržania konštantného pH nežiaduce, preto sa podmienky ako teplota a pH prispôbujú skôr substrátu a výslednému produktu.

---

Ing. Martina HRČKOVÁ, Ing. Jaroslav ZEMANOVIČ, PhD., Bc. Monika RUSŇÁKOVÁ, Katedra mlieka, tukov a hygieny požívateľín, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Významnou zložkou enzýmového hydrolyzátu nie sú len voľné aminokyseliny, ale aj peptidy rôznej veľkosti. Na delenie a identifikáciu týchto peptidov sa využíva HPLC alebo SDS-PAGE [4-8]. Z hľadiska mechanizmu hydrolyzy sú niektoré peptidy koncovými produktami reakcie. Pri hydrolyze dochádza k tvorbe senzorycky aktívnych peptidov, ktoré spôsobujú výslednú horkú chuť hydrolyzáto. Názory na horké peptidy sú rôzne, ale všeobecne sa usudzuje, že príčinou horkej chuti sú hydrofóbne aminokyseliny ako leucín, fenylalanín a prolín. Vznik horkých peptidov závisí od použitého enzýmu, substrátu, ako aj podmienok a stupňa hydrolyzy [9-11].

V súčasnosti sa do pozornosti dostáva otázka efektívneho využitia proteínov pre výživu človeka. Aby sa odstránil problém podvýživy a hladu, treba v maximálnej možnej miere využívať tzv. netradičné zdroje proteínov. Jedným z nich je práve sója. Predstavuje zdroj proteínov rastlinného pôvodu, ktoré sú svojou kvalitou porovnateľné s proteínmi živočíšneho pôvodu, najmä s proteínmi mäsa [12]. Riešenie takýchto otázok je naliehavé aj preto, že dostupnosť živočíšnych proteínov je ohrozovaná čoraz častejšie sa vyskytujúcimi epidémiami a ochoreniami niektorých druhov jatočných zvierat i hydiny.

Cieľom práce bolo uskutočniť enzýmovú hydrolyzu sójovej odtučnenej múky pomocou komerčne dostupnej technickej exoproteinázy produkovanej *Aspergillus oryzae* a zhodnotiť získané hydrolyzáty so zameraním sa na koncové produkty (peptidy a aminokyseliny) v závislosti od rôzneho prídavku použitej proteinázy.

## **Materiál a metódy**

Na enzýmovú hydrolyzu sme použili sójovú múku HP odtučnenú (Dia Vega s.r.o., Spišská Nová Ves, krajina pôvodu: Rakúsko). Ako proteinázu sme vybrali exoproteinázu produkovanú *Aspergillus oryzae* s aktivitou 1000 LAPU.g<sup>-1</sup> (Novo Nordisk, Malmö, Švédsko) a praktickou aplikáciou pri pH 4–8 a teplote 10–55 °C. Jednotka LAPU (Leucine Aminopeptidase Unit) sa definuje ako množstvo enzýmu, ktoré zhydrolyzuje 1 mmol L-leucín-*p*-nitroanilidu za minútu.

Na hydrolyzu sa použila 5% suspenzia sójovej odtučnenej múky (V = 450 ml), ktorej pH bolo upravené na hodnotu 7,0 s NaOH. Po pridaní enzýmu (v prvom pokuse 0,3 ml, v druhom pokuse 0,61 ml) sa začal sledovať čas hydrolyzy. Enzýmová hydrolyza prebiehala v 600 ml kadičke za premiešania len pred odberom vzorky, aby sa zabránilo vnášaniu mikroorganizmov. Hodnota pH sa v počas hydrolyzy neupravovala. Temperovanie hydrolyzovanej zmesi na teplotu 40 °C bola zabezpečená pomocou termostatu. V časo-

vých intervaloch 0; 10; 30; 60; 120; 240 a 480 minút sa do skúmaviek odoberalo po 75 ml vzorky. Inaktivácia enzymovej aktivity sa uskutočnila 15-minútovým zohrevom hydrolyzáto v vodnom kúpeli pri 85 °C. Po ochladení sa vzorky použili na ďalšie stanovenia.

Priebeh hydrolyzy sa sledoval stanovením jej produktov - uvoľnených celkových aminokyselín a voľného tyrozínu. Koncentrácia uvoľnených aminokyselín sa určila v supernatante pomocou ninhydrínového činidla, množstvo uvoľneného tyrozínu sa sledovalo taktiež v supernatante pomocou Folínového činidla.

Jednotlivé voľné aminokyseliny v konečnom hydrolyzáte boli stanovené automatickým analyzátorom aminokyselín AAA 339, výrobca Mikrotechna, Praha.

Stupeň hydrolyzy  $DH_{AK}$  bol vypočítaný na základe stanoveného množstva uvoľnených aminokyselín v jednotlivých hydrolyzátoch [13] podľa vzorca:

$$DH = h/h_{tot} \cdot 100 \%$$

kde  $h$  je množstvo uvoľnených aminokyselín v hydrolyzáte ( $mg \cdot ml^{-1}$ ) a  $h_{tot}$  celkové množstvo aminokyselín v proteíne ( $mg \cdot ml^{-1}$ ).

Na zistenie do akej miery bola použitá proteináza schopná hydrolyzovať proteíny sójovej odtučnenej múky sa získané hydrolyzáty analyzovali pomocou SDS-PAGE. Hydrolyzáty získané v priebehu 8-hodinovej hydrolyzy pri oboch koncentráciách sa po odstredení a prídavku tlmivého roztoku (Tris-HCl, EDTA, SDS, glycerol, brómfenolová modrá; pH 8) s obsahom 2-merkaptotanolu (5 %) naniesli na 14% polyakrylamidový gél. Delenie sa uskutočnilo na aparátúre vyrobenej svojpomocne vo vývojových dielňach Fakulty chemickej a potravinárskej technológie STU pri 30 mA po dobu 30 min [14].

## Výsledky a diskusia

Na hodnotenie enzymovej hydrolyzy 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky použitou exoproteinázou pri dvoch rôznych prídavkoch sme použili zistené pomery množstva uvoľneného tyrozínu a množstva uvoľnených aminokyselín. Získané výsledky sú v tab. 1 a na obr. 1 a 2.

Vyšší podiel tyrozínu k ostatným aminokyselinám v hydrolyzátoch po 10 minútach hydrolyzy klesol na hodnotu 0,13 a po 480 minútach hydrolyzy na hodnotu 0,09. Vyšší pomer tyrozínu k aminokyselinám bol pri nižšom prídavku enzýmu.

TAB. 1. Enzymová hydrolyza 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky pri rôznych prídavkoch použitej exoproteinázy, pH 7,0, teplota 40 °C.

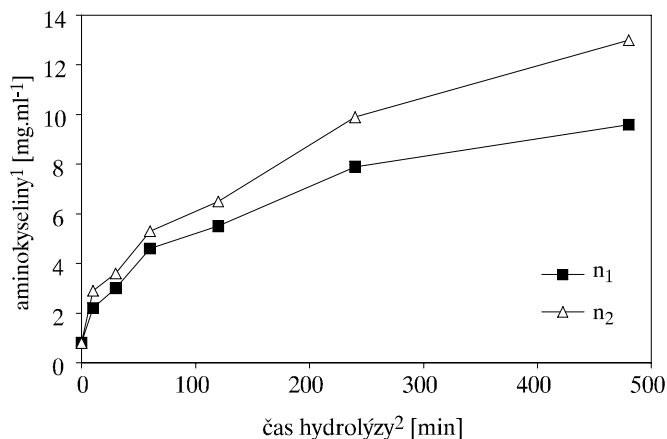
TAB. 1. Enzymatic hydrolysis of the 5% suspension of defatted soya flour at various additions of exoproteinase, pH 7.0, temperature 40 °C.

Enzým <sup>1</sup>	Čas hydrolyzy <sup>2</sup> [min]						DHAK [%]
	10	30	60	120	240	480	
	Tyr/AK						
n <sub>1</sub>	0,27	0,23	0,17	0,16	0,13	0,13	39,5
n <sub>2</sub>	0,21	0,20	0,15	0,14	0,11	0,09	54,9

n<sub>1</sub> - prídavok enzýmu 0,3 ml, n<sub>2</sub> - prídavok enzýmu 0,61 ml, DH<sub>AK</sub> - stupeň hydrolyzy počítaný z množstva uvoľnených aminokyselín, Tyr/AK - pomer množstva uvoľneného tyrozínu k množstvu uvoľnených celkových aminokyselín.

n<sub>1</sub> - enzyme addition 0.3 ml, n<sub>2</sub> - enzyme addition 0.61 ml, DH<sub>AK</sub> - degree of hydrolysis calculated from the amount of released amino acids, Tyr/AK - ratio of the released tyrosine amount to the total released amino acids amount.

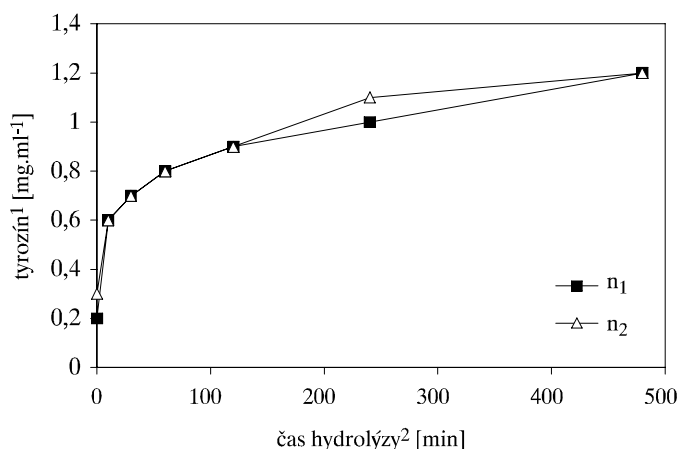
1 - enzyme, 2 - hydrolysis time.



OBR. 1. Množstvo uvoľnených aminokyselín počas hydrolyzy 450 ml 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky v prítomnosti použitej proteinázy pri dvoch rôznych prídavkoch enzýmu. n<sub>1</sub> - prídavok enzýmu 0,3 ml, n<sub>2</sub> - prídavok enzýmu 0,61 ml.

FIG. 1. The amount of released amino acids during the hydrolysis of 450 ml of the 5% suspension of defatted soya flour in the presence of exoproteinase at two different additions. n<sub>1</sub> - enzyme addition 0.3 ml, n<sub>2</sub> - enzyme addition 0.61 ml.

1 - amino acids, 2 - hydrolysis time.



OBR. 2. Množstvo uvoľneného tyrozínu počas hydrolýzy 450 ml 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky v prítomnosti použitej exoproteinázy pri dvoch rôznych prídavkoch enzýmu.

n<sub>1</sub> - prídavok enzýmu 0,3 ml, n<sub>2</sub> - prídavok enzýmu 0,61 ml.

FIG. 2. The amount of released tyrosine during the hydrolysis of 450 ml of the 5% suspension of defatted soya flour in the presence of exoproteinase at two different additions.

n<sub>1</sub> - enzyme addition 0.3 ml, n<sub>2</sub> - enzyme addition 0.61 ml.

1 - tyrosine, 2 - hydrolysis time.

Z obr. 1 a 2 vidieť, že v priebehu hydrolýzy 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky množstvo uvoľnených aminokyselín počas celej doby stúpalo. Väčší nárast aminokyselín sa zaznamenal v prípade vyššieho prídavku použitého enzýmu. V priebehu prvých 240 minút množstvo uvoľneného tyrozínu v oboch prípadoch rástlo, v prípade väčšieho prídavku preparátu vo väčšej miere. Potom až do skončenia reakcie sa sledoval len mierny nárast v množstve uvoľneného tyrozínu. V oboch prípadoch po 8 hodinách hydrolýzy dosiahlo množstvo tyrozínu rovnakú hodnotu.

Zo zistených stupňov hydrolýzy DH<sub>AK</sub> (tab. 2) možno konštatovať, že vyšší stupeň štiepenia proteínov (DH<sub>AK</sub> 54,9) sa po skončení reakcie dosiahol vyšším prídavkom proteinázy. Na obr. 3 a 4 sú záznamy SDS-PAGE analýzy, z ktorých možno posúdiť schopnosť použitej proteinázy hydrolyzovať proteíny sójovej odtučnenej múky v závislosti od prídavku enzýmu. Hydrolýza sa týka degradácie hlavných zásobných proteínov sóje, a to β-konglycinínu, ktorý pozostáva z α', α a β podjednotiek a glycinínu, ktorý sa skladá z kyslého (A) a zásaditého (B) polypeptidu. V hydrolyzačných zvyškoch zo sójovej odtučnenej múky vidieť, že v prípade oboch použitých

TAB. 2. Enzymová hydrolyza 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky, teplota 40 °C, pH 7,0, v prítomnosti použitej exoproteinázy pri jej dvoch rôznych prídavkoch.

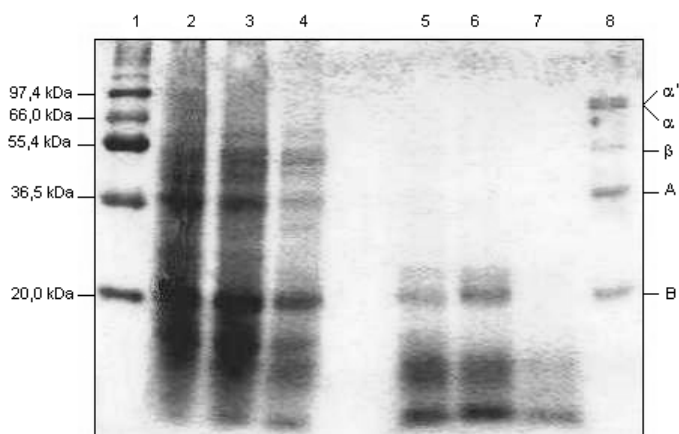
TAB. 2. Enzymatic hydrolysis of the 5% suspension of defatted soya flour, temperature 40 °C, pH 7,0, in the presence of exoproteinase at two different additions.

Enzým <sup>1</sup>	Čas hydrolyzy <sup>2</sup> [min]					
	10	30	60	120	240	480
	DH <sub>AK</sub> [%]					
n <sub>1</sub>	6,3	9,9	17,1	21,1	32,0	39,5
n <sub>2</sub>	9,4	12,6	20,2	25,6	41	54,9

n<sub>1</sub> - prídavok enzýmu 0,3 ml, n<sub>2</sub> - prídavok enzýmu 0,61 ml, DH<sub>AK</sub> - stupeň hydrolyzy počítaný z množstva uvoľnených aminokyselín.

n<sub>1</sub> - enzyme addition 0.3 ml, n<sub>2</sub> - enzyme addition 0.61 ml, DH<sub>AK</sub> - degree of hydrolysis calculated from the amount of released amino acids.

1 - enzyme, 2 - hydrolysis time.



OBR. 3. SDS-PAGE hydrolyzátoov po redukcii s 2-merkaptóetanóloom.

Hydrolyzáty sa získali po štiepení 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky za prítomnosti študovanej exoproteinázy (0,6 ml/450 ml).

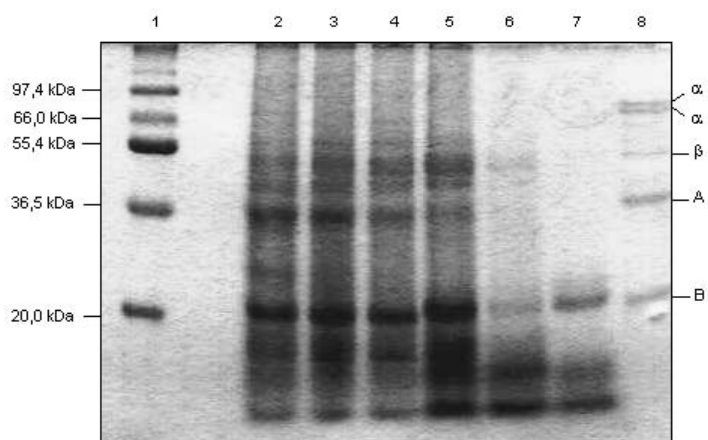
1 - štandardná zmes proteínov - fosforyláza b (97,4 kDa), glutamátdehydrogenáza (55,4 kDa), hovädzí sérový albumín (66,0 kDa), laktátdehydrogenáza (36,5 kDa), trypsínový inhibítor (20,0 kDa); čas hydrolyzy: 2 - 10 min; 3 - 30 min; 4 - 60 min; 5 - 120 min; 6 - 240 min; 7 - 480 min; 8 - sójová odtučnená múka.

Fig. 3. SDS-PAGE of hydrolysates after the reduction by 2-mercaptoethanol.

The hydrolysates were obtained by the hydrolysis of the 5% suspension of defatted soya flour using 0,6 ml/450 ml of the exoproteinase.

1 - mixture of standard proteins - phosphorylase b (97,4 kDa); glutamate dehydrogenase (55,4 kDa); bovine serum albumin (66,0 kDa); lactate dehydrogenase (36,5 kDa); trypsin inhibitor (20,0 kDa); time of hydrolysis: 2 - 10 min; 3 - 30 min; 4 - 60 min; 5 - 120 min; 6 - 240 min; 7 - 480 min; 8 - defatted soya flour.

prídavkov preparátu došlo už po 30 minútach hydrolýzy k podstatnému rozštiepeniu  $\alpha'$  podjednotky  $\beta$ -konglycinínu. Po 60 minútach sa už zaznamenala totálna hydrolýza tejto podjednotky. Pri vyššom prídavku enzýmu sa zhydrolýzovali po 120 minútach všetky podjednotky  $\beta$ -konglycinínu a taktiež kyslý polypeptid A, v prípade menšieho prídavku preparátu sa hydrolyzovala  $\beta$ -podjednotka  $\beta$ -konglycinínu a A polypeptid glycinínu len čiastočne. Po 8 hodinách hydrolýzy sa v hydrolyzačných zvyškoch pomocou väčšieho prídavku proteinázy nenachádzal ani zásaditý B polypeptid glycinínu, tzn. pri tomto prídavku preparát hydrolyzoval proteíny sójovej múky úplne. Aj napriek vysokému stupňu hydrolýzy sa v spomínanom hydrolyzáte pozorovali v spodnej časti záznamu zóny štiepných produktov hydrolýzy. Išlo



OBR. 4. SDS-PAGE hydrolyzáto v po redukciu s 2-merkaptotanolom.

Hydrolyzáty sa získali po štiepení 5% suspenzie sójovej odtučnenej múky za prítomnosti študovanej exoproteinázy (0,3 ml/450 ml).

1 - štandardná zmes proteínov - fosforyláza b (97,4 kDa), glutamátdehydrogenáza (55,4 kDa), hovädzí sérový albumín (66,0 kDa), laktátdehydrogenáza (36,5 kDa), trypsínový inhibítor (20,0 kDa); čas hydrolýzy: 2 - 10 min; 3 - 30 min; 4 - 60 min; 5 - 120 min; 6 - 240 min; 7 - 480 min; 8 - sójová odtučnená múka.

FIG. 4. SDS-PAGE of hydrolysates after the reduction by 2-mercaptoethanol.

The hydrolysates were obtained by the hydrolysis of the 5% suspension of defatted soya flour using 0,3 ml/450 ml of the exoproteinase.

1 - mixture of standard proteins - phosphorylase b (97,4 kDa); glutamate dehydrogenase (55,4 kDa); bovine serum albumin (66,0 kDa); lactate dehydrogenase (36,5 kDa); trypsin inhibitor (20,0 kDa); time of hydrolysis: 2 - 10 min; 3 - 30 min; 4 - 60 min; 5 - 120 min; 6 - 240 min; 7 - 480 min; 8 - defatted soya flour.

o menšie oligopeptidy, resp. zmes aminokyselín, ktoré sa na danom géli nedali rozdeliť. Po senzorickom hodnotení sa zistila horká chuť analyzovaných hydrolyzátoch.

Záverom možno zhrnúť, že  $\beta$ -konglycinín je v prítomnosti použitej proteínázy pomerne ľahko hydrolyzovateľný, pokiaľ glycinín sa ukázal ako rezistentnejší proteín sójovej múky. Toto zistenie je v súlade aj s prácami iných autorov [8]. Použitím väčšieho prídavku enzýmu je stupeň hydrolyzy proteínov sójovej múky väčší. V rámci glycinínovej frakcie sa B polypeptid hydrolyzuje oveľa ťažšie a pomalšie ako molekula kyslého polypeptidu A. Je to pravdepodobne dôsledok toho, že tieto polypeptidy majú tendenciu vytvárať veľké nerozpustné komplexy, a tým sú menej prístupné enzýmovej hydrolyze.

TAB. 3. Zastúpenie aminokyselín v konečných hydrolyzátoch sójovej odtučnenej múky pri dvoch rôznych prídavkoch použitej exoproteínázy.

TAB. 3. Contents of amino acids in final hydrolysates of defatted soya flour at two different additions of the exoprotease.

Aminokyselina <sup>1</sup>	Obsah v sójovej odtučnenej múke <sup>2</sup> [%]	Podiel v hydrolyzátoch <sup>3</sup> [%]	
		n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>
Asp	12,7	2,8	3,2
Tre	4,0	3,6	3,6
Ser	5,4	7,4	8,2
Glu	21	4,5	5,4
Pro	5,3	-	-
Gly	4,3	1,3	1,5
Ala	4,3	3,6	3,6
Val	4,2	5,9	6,1
Met	0,7	1,8	2,4
Ile	4,1	4,0	4,4
Leu	8,1	10,6	10,6
Tyr	2,8	8,6	5,8
Phe	4,6	9,2	8,5
His	2,7	8,1	6,9
Arg	8,7	22,1	22,9
Lys	7,2	6,4	6,9

n<sub>1</sub> - prídavok enzýmu 0,3 ml, n<sub>2</sub> - prídavok enzýmu 0,61 ml.

n<sub>1</sub> - enzyme addition 0.3 ml, n<sub>2</sub> - enzyme addition 0.61 ml.

1 - amino acid, 2 - contents in defatted soya flour, 3 - proportion in hydrolysates.



Analýzou voľných aminokyselín v konečnom hydrolyzáte získanom po enzymovom štiepení v prítomnosti použitej proteínázy sa zistilo ich vzájomné zastúpenie v %. Výsledky sú uvedené v tab. 3. Z nich možno usúdiť, že rôzne množstvá enzýmu nemali vplyv na množstvo uvoľnených aminokyselín v konečných hydrolyzátoch. Vo všeobecnosti hydrolyzáty obsahovali pestrú zmes aminokyselín. Okrem prolínu sa tu vyskytovali všetky aminokyseliny. Dominantné zastúpenie v hydrolyzáte (viac ako 22 %) mal arginín. Ďalej sa zistil vyšší podiel leucínu - 10,6 %, fenyľalanínu - 9,2/8,5 %, tyrozínu a histidínu. Najnižšie zastúpenie vykazoval glycín- 1,3/1,5 %.

Úpravou sójovej múky alebo izolovaných sójových proteínov proteínázami sa produkujú proteíny s modifikovanými funkčnými vlastnosťami, ako je vyššia rozpustnosť, stabilita peny a emulgačná kapacita. Hydrolyzáty sójových proteínov sa môžu pridávať do potravín s nízkym pH, ako sú napr. nápoje. Proteolýzou získané rozpustné produkty nespôsobujú pri aplikácii problémy so želatínovaním, zákalom a cudzou arómou u vyrábaných potravín. Hydrolyzou sójovej odtučnenej múky v prítomnosti exoproteínázy produkovanej *Aspergillus oryzae* možno nahradiť výrobu príchuťí a esencií z rastlinných proteínov kyslou hydrolyzou, pri ktorej dochádza k tvorbe potenciálnych karcinogénnych zlúčenín.

## Literatúra

1. PERIAGO, M. J. - VIDAL, M. L. - ROS, G.: Influence of enzymatic treatment on the nutritional and functional properties of pea flour. *Food Chemistry*, 63, 1998, s. 71-78.
2. ADLER-NISSEN, J.: Enzymic hydrolysis of food proteins. London - New York : Elsevier Applied Science Publishers, 1986. 426 s.
3. ALTHOUSE, P. J. - DINAKAR, P. - KILARA, A. J.: Screening of proteolytic enzymes to enhance foaming of whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 60, 1995, s. 1110-1112.
4. SZE-TAO, K. W. C. - SATHE, S. K.: Functional properties and in vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis* L) protein isolate. *Food Chemistry*, 69, 2000, s. 153-160.
5. VISSER, S. - NOORMAN, H. J. - SLANGER, CH. J. - ROLLEMA, H. S.: Action of plasmin on bovine  $\beta$ -casein in membrane reactor. *Journal of Dairy Research*, 56, 1989, s. 323-333.
6. SHIMOYAMADA, M. - IKEDO, S. - OOTSUBO, R. - WANATABE, K. J.: Effects of soybean saponins on chymotryptic hydrolyses of soybean protein. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 1998, s. 4793-4797.
7. BABIKER, E. E.: Effect of transglutaminase treatment on the functional properties of native and chymotrypsin-digested soy protein. *Food Chemistry*, 70, 2000, s. 139-145.
8. MARSMAN, G. J. P. - GRUPPEN, H. - MUL, A. J. - VORAGEN, A. G. J.: In vitro accessibility of untreated, toasted and extruded soybean meals for proteases and carbohydrates. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 1997, s. 4088-4095.
9. MAHAJAN, A. - DUA, S.: Role enzymatic treatment in modifying the functional properties of rapeseed (*Brassica campestris* var. *toria*) meal. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 49, 1998, s. 435-440.

10. KORHONEN, H. - PIHLANTO-LEPPÄLÄ, A. - RANTAMÄKI, P.: Impact of processing on bioactive proteins and peptides. *Trends in Food and Technology*, 9, 1998, s. 307-319.
11. LOVŠIN-KUKMAN, I. - ZELENIK-BLATNIK, M. - ABRAM, V. Z.: Bitterness intensity of soybean protein hydrolysates - chemical and organoleptic characterization. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 203, 1996, s. 272-276.
12. VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin*. Praha : OSSIS, 1999. 352 s.
13. DAVÍDEK, J. a kol.: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. Praha : SNTL, 1977. 720 s.
14. VAREČKA, L. - MIKO, M.: *Laboratorné cvičenia z biochémie II*. Bratislava : Slovenská technická univerzita, 1998. 93 s.

Do redakcie došlo 21.9.2001.

### **Enzymatic proteolysis of defatted soya flour**

HRČKOVÁ, M. - ZEMANOVIČ, J. - RUSŇÁKOVÁ, M.: *Bull. potrav. Výsk.*, 40, 2001, p. 301-310.

**SUMMARY.** Enzymatic hydrolysis of the defatted soya flour was carried out using the exo-proteinase produced by *Aspergillus oryzae*. Two different enzyme additions were tested. The hydrolysis took place at the temperature of 40 °C, pH 7.0, without any additional pH adjustment and without mixing. At the hydrolysis of the 5% suspension of defatted soya flour, the ratio of the released tyrosine to total released amino acids differed for different enzyme concentrations and hydrolysis time. Amino acids arginine, leucine, tyrosine, phenylalanine and histidine were dominant in final hydrolysates. Total hydrolysis of  $\beta$ -conglycin and of the acidic polypeptide A took place after 8 h of hydrolysis at both enzyme concentrations used.

**KEYWORDS:** enzymatic hydrolysis; exoproteinase; defatted soya flour; proteins