

Enzýmová hydrolýza proteínov pri výrobe potravín

VIERA LUKÁČOVÁ - JAROSLAV ZEMANOVIČ

SÚHRN. Prehľadný článok poskytuje stručný prehľad oblastí potravinárskeho priemyslu, kde sa proteolýza využíva na zlepšenie vlastností výrobku, prípadne urýchlenie procesu jeho získania. Uvádzajú sa vplyvy proteolýzy na fyzikálnochemické, biologické a senzorické vlastnosti týchto výrobkov.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: proteáza, proteolýza, proteínový hydrolyzát, funkčné vlastnosti

Rozvoj výroby enzýmov je charakterizovaný dvoma etapami. V prvej etape dochádzalo k využitiu mikroorganizmov pre ich produkciu a v druhej etape, prebiehajúcej aj teraz, sa na produkciu enzýmov využívajú mikroorganizmy upravované génovými manipuláciami [1]. Tým sa sortiment i vyrábané množstvo enzýmov podstatne zväčšili. Vytvoril sa tak predpoklad pre širšiu aplikáciu enzýmov aj pri výrobe potravín. Pochopiteľne, že zo skupiny hydroláz sa to týka aj proteáz [2].

Aplikácia proteáz v potravinárskej technológii nie je jednoduchá záležitosť. Ako všetky enzýmy, tak aj proteázy musia vyhovovať mikrobiologickým a hygienickým požiadavkám podľa potravinového kódexu [3]. Pokiaľ vyhovujú požadovaným kritériám, potravinárske enzýmy ako technologické pomocné látky sa môžu do potravín pridávať bez osobitného obmedzenia, ale nesmú sa stať súčasťou potraviny. Enzýmovou hydrolýzou proteínov sa dajú meniť tieto vlastnosti: rozpustnosť, stráviteľnosť, konzistencia, penivosť, emulgačná schopnosť, senzorické vlastnosti.

Pri prídavku proteáz do potravín sa musia zohľadniť štyri základné faktory, ktoré ich účinok ovplyvňujú. Je to optimálna teplota a pH enzýmu, pomer enzým - substrát spolu s aktivitou enzýmu a koncentrácia substrátu. Významný je aj čas hydrolýzy, nakoľko podmienky pre hydrolýzu sú priaznivé aj pre rast mikroorganizmov. Vzhľadom na tento aspekt je vhodné pracovať

Ing. Viera LUKÁČOVÁ, Ing. Jaroslav ZEMANOVIČ, CSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny požívatin, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

so substrátom bez mikroorganizmov a s obmedzenou možnosťou kontaminácie v priebehu hydrolyzy.

Samotné proteíny sa môžu hydrolyzovať ako zložka potravy alebo po ich izolácii. Ako zložka potravy sa môže hydrolyzovať napr. lepok, proteíny mäsa, po izolácii sa štiepia napr. proteíny syreniny, alebo sójové bielkovinové izoláty. U nás bola experimentálne sledovaná hydrolyza kazeínu, kukuričného gluténu, sójového izolátu a proteínov srvátky za prítomnosti proteáz trypsínu a Alcalase (Novo Industri) [4].

Priebeh proteolýzy sa hodnotí stanovením stupňa hydrolyzy príslušných proteínov alebo stanovením produktov hydrolyzy, konkrétne peptidov a aminokyselín, ktoré sú spravidla ľahšie stráviteľné. Niektoré peptidy sú zaujímavé aj z hľadiska ich biologickej účinnosti, niektoré môžu pôsobiť ako inhibítory, iné sú zaujímavé z hľadiska ich chuti a iných funkčných vlastností.

V ďalšej časti je uvedený prehľad publikácií zaoberajúcich sa problematikou proteolýzy.

Proteázy

V potravinárskom priemysle sa využívajú proteázy z rastlinných, živočíšnych aj mikrobiálnych zdrojov. Zo živočíšnych sú to hlavne v mliekárstve využívané chymozín a pepsín. Rovnaký pôvod majú trypsín a chymotrypsín, ktorých použitie je výrazne ovplyvnené ich špecifitou. Trypsín štiepi peptidové väzby aminokyselín arginín a lyzín. Chymotrypsín štiepi peptidové väzby aminokyselín tyrozín, tryptofán, fenylalanín a leucín.

V súčasnosti sa veľká pozornosť venuje mikrobiálnym proteázam. Významným producentom je rod *Bacillus*, hlavne kmene *Bacillus subtilis* a *Bacillus amyloliquefaciens*. Ďalšími významnými producentami proteáz sú *Mucor pusillus* a *Mucor miehei*. Prehľad producentov je v tab. 1.

Proteázy sa môžu do potravín pridávať vo forme izolovaného technického preparátu, alebo sa pridávajú mikroorganizmy, ktoré žiadajú proteázu produkujú, napr. *Brevibacterium linens* [14,15] alebo *Lactobacillus casei*.

Využitie proteáz

Modifikácia potravinárskych proteínov enzýmovou hydrolyzou je stará technológia, ktorú ľudstvo využívalo na zlepšenie chutnosti a skladovacej

TABUĽKA 1. Oblasti využitia niektorých proteáz v potravinárskom priemysle.

TABLE 1. Areas of use of some proteases in food industry.

Enzým ¹	Zdroj ²	Oblasť použitia ³	Lit. ⁴
Mikrobiálne enzýmy ⁵			
Milenzyme ^a	<i>Aspergillus oryzae</i>	pekárstvo	5,6
HT-proteolytic ^a	<i>Bacillus subtilis</i>	pekárstvo	5,7
Neutrase ^b	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	produkcia sójového mlieka syr - urýchlenie zrenia	8 9
Alcalase ^b	<i>Bacillus licheniformis</i>	mäsiarstvo	6
mikrobiálny renín	<i>Mucor</i> sp.	syr - koagulácia mlieka	6,10
peptidáza	<i>Brevibacterium linens</i>	syr - urýchlenie zrenia	6,11,12
Živočíšne enzýmy ⁶			
renín	telecí žalúdok	syr - koagulácia mlieka	6
pepsín	hovädzí a prasačí žalúdok	syr - koagulácia mlieka	6
Rastlinné enzýmy ⁷			
aktinidín	kiwi	mäsiarstvo	13
papaín	papája	pivárstvo - odstránenie chladového zákalu, mäsiarstvo	6
bromelaín	ananas	mäsiarstvo, pekárstvo	6,7
ficín	figy	mäsiarstvo	6,7

a - enzýmy od Miles Laboratories Inc., b - enzýmy od Novo Industri.

a - enzymes from Miles Laboratories Inc., b - enzymes from Novo Industri, 1 - enzyme, 2 - source, 3 - area of use, 4 - references, 5 - microbial enzymes, 6 - animal enzymes, 7 - plant enzymes.

stability niektorých typov potravín a hlavne pri výrobe syra [16]. V súčasnosti sa jej využitie rozšírilo na úpravu fyzikálnochemických vlastností potravín, na zlepšenie ich nutričnej hodnoty a na urýchlenie procesov zrenia syrov.

Enzymová hydrolýza proteínov sa využíva takmer vo všetkých oblastiach potravinárskeho priemyslu, predovšetkým v pekárstve, mäsiarstve, mliekárstve, výrobe piva a príprave sójových hydrolyzáto [17]. Niektoré z najvyužívanejších proteáz spolu s ich zdrojom a oblasťou použitia v potravinárskom priemysle sú uvedené v tab. 1.

Mlynársky a pekársky priemysel

Proteolytické enzýmy sa využívajú na ovplyvnenie vlastností cesta

a zlepšenie kvality finálneho produktu. Enzýmy Milenzyme Fungal Protease, HT-proteolytic a Milenzyme Bromelain (všetky od Miles Laboratories Inc.) zlepšujú kvasenie a skracujú proteínový reťazec, čo prispieva k tvorbe arómy [5]. Pri výrobe chleba urýchľuje proteáza Milenzyme Fungal Protease z *Aspergillus oryzae* hydrolýzu vnútorných disulfidových väzieb gluténu, čím sa znižuje tvrdosť múky, zvyšuje sa rozťažnosť cesta a znižuje potrebný čas miešania. Súčasne zvyšuje objem bochníka a dáva chlebu hladšiu textúru [6]. HT-proteolytic je proteáza z *Bacillus subtilis*, ktorá sa používa na úpravu vysokoproteínovej múky v keksoch, sladkom pečive, pizze a iných špeciálitách pekárskych výrobkov. Zjemňuje cesto, zlepšuje rozťažnosť a redukuje elasticnosť. Milenzyme Bromelain je proteolytický enzým z ananásu, ktorý sa aplikuje pri hydrolýze väčšiny rozpustných proteínov, napr. v oblátkach, napolitáňkách a palacinkách [5].

Fungálne proteázy sa pridávajú do cesta na zlepšenie symetrie bochníka, zlepšenie pórovitosti a textúry a na získanie ľahšej striedky. Fungálne proteázy obsahujú exo- aj endopeptidázy [18].

Cukrárenský priemysel

Modifikácia proteínov mikrobiálnymi enzýmami sa využíva na produkciu peniacich prídavkov a špeciálnych proteínových hydrolyzátov pre dietetické účely [7].

Výroba sójových hydrolyzátov

Úpravou sójovej múky, alebo izolovaných sójových proteínov proteázami sa produkujú proteíny s modifikovanými funkčnými vlastnosťami, ako je vyššia rozpustnosť, stabilita peny a emulgačná kapacita [1]. Hydrolyzáty sójových proteínov sa pridávajú do potravín s nízkym pH, ako sú napr. nápoje. Hydrolýzou získané rozpustné produkty nespôsobujú pri aplikácii problémy so želatínovaním, zákalom a cudzou arómou u produkovaných potravín [7]. Hlavný problém spojený s hydrolyzátmi sójových proteínov je vznik horkých peptidov. Stupeň horkosti hydrolyzátu závisí od stupňa hydrolýzy. Pri hydrolýze sójových bôbov sa využíva tiež neutrálna proteáza Neutrase (Novo Industri) z *Bacillus amyloliquefaciens*, ktorá výrazne zvyšuje obsah rozpustných proteínov [8].

Výroba piva

Potrebný obsah rozpustných dusíkatých zlúčenín sa zvyšuje činnosťou proteáz a exopeptidáz prítomných v slade. Ak sa používa nesladované obilie, chýbajúca proteolytická aktivita sa musí nahradiť exogénnymi proteázovými preparátmi. Vybrané proteázy musia byť stabilné pri 55 - 60 °C, mať opti-

mum aktivity pri pH v rozmedzí 6 - 7, byť rezistentné voči prírodným proteázovým inhibítorm a aktívne pri veľmi nízkych koncentráciách proteínov. Je možné použiť viacero enzýmov, ale zvyčajne sa využíva papaín, pretože sa neinaktivuje pasterizáciou piva a nemá nepriaznivý vplyv na senzorické vlastnosti produktu [1]. Okrem zvýšenia výťažku mladiny a obsahu dusíka v nej, proteázy odstraňujú chladový zákal piva, ktorý vzniká počas finalizácie vytvorením komplexov proteínov s tanínom [7], pomáhajú pri tvorbe arómy a plnosti chuti a tiež pri filtrácii a čírení [17].

V niektorých krajinách aplikácia enzýmov pri výrobe piva nie je povolená.

Mliekarský priemysel

Zrážanie mlieka pri výrobe syra je iniciované proteolytickou enzýmovou reakciou. Pôvodne sa ako syridlo pridával extrakt získavaný z teľacieho žalúdka, obsahujúci enzým renín. Okrem renínu sa pri výrobe syra využíval aj pepsín alebo zmes pepsínu a renínu. V súčasnosti sa na zrážanie mlieka viac využívajú enzýmy získavané z mikrobiálnych zdrojov. Efektívnym producentom takéhoto enzýmu je *Endothia parasitica*. Tento enzým však nie je vhodný na produkciu dlhorejúcich syrov ako je čedar, kde môže spôsobovať chyby v chuti a aróme. Pre produkciu dlhorejúcich syrov sa ako vhodné ukázali enzýmy z *Mucor pusillus* a hlavne *Mucor miehei*. S využitím techník rekombinantnej DNA je možné fermentáciou mikroorganizmov produkovať enzým autentický s teľacím renínom. Na zavedenie príslušných génov sa ako hostiteľské bunky použili *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* a *Saccharomyces cerevisiae* [6].

Mikrobiálne proteázy majú v syrárstve široké použitie v procese zrenia syrov. Väčšinou ich produkujú pridané mikroorganizmy. Zrenie syra zahŕňa zmeny v jeho chemických a fyzikálnych vlastnostiach. Ako prvý sa pri zrení syra hydrolyzuje α -kazeín pôsobením chymozínu, alebo pôvodných mliečnych proteáz. β -Kazeín sa potom hydrolyzuje renínom na peptidy, alebo mliečnou alkalickou proteázou plazmínom na γ -kazeín. S výnimkou plesňových syrov, ako napr. camembert, kde plesne spôsobujú hydrolyzu β -kazeínu na povrchu syra, veľké množstvo β -kazeínu zostáva nedotknuté do konca zrenia. Primárna fáza proteolýzy v procese zrenia syrov teda zahŕňa hydrolyzu proteínov na polypeptidy, sekundárna fáza potom degradáciu polypeptidov na nižšie peptidy a aminokyseliny pôsobením proteáz organizmov rastúcich v syre. Stupeň proteolýzy závisí od typu syra. Proteíny v mäkkých syroch sú proteolyzované na nízkomolekulové peptidy a aminokyseliny, zatiaľ čo v tvrdých syroch je rozpustných len asi 30 % proteínov [19]. Zrenie syra je dlhotrvajúci proces, ktorý možno urýchliť použitím niektorých proteáz, napr. komerčne vyrábaná Neutrase (Novo

Industri) [9], HT-proteolytic (Miles Laboratories Inc.) alebo kyslá proteáza z *Aspergillus oryzae* [20]. Pri výrobe syrov zrejúcich pod mazom sa využívajú extracelulárne aminopeptidázy z *Brevibacterium linens* [11,12].

Mäsový priemysel

Proteázy zohrávajú dôležitú úlohu v tenderizácii mäsa. Tenderizácia mäsa prebieha pôsobením endogénnych proteáz, hlavne lyzozomálneho katepsínu a neutrálnej metaloproteázy. Okrem toho možno použiť aj exogénne proteázy ako sú ficín, bromelaín, papaín, fungálne proteázy [6,19] alebo aktinidín [13]. Ideálne enzýmy, ktoré možno použiť na tenderizáciu mäsa, by mali byť aktívne pri pH 4 - 5 a nízkej teplote a mali by sa inaktivovať pri teplote asi 50 °C. Pre povrchovú tenderizáciu sa využíva najmä 2 % papaín alebo 5 % mikrobiálna proteáza z *B. subtilis* alebo *A. oryzae* [19].

Malé zvyšky mäsa, ktoré pri bežnom spracovaní zostávajú na hlave alebo kostiach, možno pre použitie v potravinárskych produktoch získať rozpustením pomocou proteolýzy. Získané produkty možno použiť na obohacenie arómy a chuti polievok a mäsových konzerv. Pre toto použitie sa ako najvhodnejšia ukázala Alcalase firmy Novo Industri z *Bacillus licheniformis* [6].

Ďalšie využitie

Okrem vyššie uvedených oblastí potravinárskeho priemyslu sa proteázy využívajú tiež na zvýšenie rýchlosti sušenia a zlepšenie manipulácie s produktami z cereálií. Ďalej zlepšujú sušenie vajec a vaječných produktov a zohrávajú dôležitú úlohu vo fermentácii kakaových bôbov pre výrobu kakaa a čokolády [17].

Podmienky enzýmovej hydrolýzy

Enzýmová hydrolýza rieši väčšinu problémov vznikajúcich pri kyslej alebo zásaditej hydrolýze, ako sú napr. extrémne podmienky, strata nutričnej hodnoty alebo obsah solí v produkte, ktoré obmedzujú aplikáciu týchto hydrolyzátorov v potravinárskom priemysle. Enzýmová hydrolýza je veľmi účinná a uskutočňuje sa za miernejších podmienok, pri teplotách maximálne do 60 °C a pri pH okolo neutrálnej hodnoty. Napr. srvátkové proteíny sa najúčinnšie hydrolyzovali trypsínom a α -chymotrypsínom pri pH 7,6 - 7,8 a teplote 25 °C. Pomocou Alcalase a Neutrase (Novo Industri) sa hydrolyzovali pri pH 7,8 - 8,5 a 50 °C [21]. β -Kazeín sa hydrolyzoval plazmínom

pri pH 6,8 a 40 °C [22]. Enzýmy používané v pekárskom priemysle sú najaktívnejšie pri pH 4,0 - 9,0 a pri teplotách 45 - 65 °C [5]. Za týchto miernych podmienok hydrolýzy sa zachováva nutričná hodnota vznikajúcich peptidov a aminokyselín.

Pôvodne boli enzýmy používané len v rozpustnej forme. Zvýšenie stupňa hydrolýzy s vyšším obsahom voľných aminokyselín možno dosiahnuť imobilizáciou enzýmu v kolónovom reaktore [23]. Ďalšie výhody použitia imobilizovaných enzýmov pri hydrolýze sú menšie potrebné množstvo enzýmu, čím sa znižujú náklady, možnosť viacnásobného použitia, získanie čistého produktu bez zvyškov enzýmu, vyššia stabilita enzýmu a možnosť kontinuálizácie procesu, čo umožňuje lepšiu kontrolu kvality produktu [7]. Podobným spôsobom možno použiť enzýmovú hydrolýzu v membránovom reaktore [24].

Funkčné a biologické vlastnosti hydrolyzátorov

Enzýmová hydrolýza proteínov v potravinách sa využíva na zlepšenie ich funkčných a senzorických vlastností. Zvyšuje sa rozpustnosť proteínov, upravuje sa penivosť, emulgačná schopnosť, stráviteľnosť a chuť [22,25-27]. Niektoré vlastnosti proteínov, ktoré sa v potravinárskom priemysle upravujú ich hydrolýzou, sú uvedené v tab. 2.

Povrchovoaktívne vlastnosti, penivosť a emulgácia

Althouse a kol. [25] sledovali vplyv proteolýzy na zmenu peniacich vlastností srvátkových proteínov použitím enzýmov Alcalase (Novo Industri),

TABUĽKA 2. Funkčné vlastnosti proteínov v potravinách a ich aplikácie [28].
TABLE 2. Functional properties of proteins in foods and their applications [28].

Vlastnosť ¹	Aplikácie ²
emulgácia	mäso, biela káva, šalátové dresingy
hydratácia	cesto, mäso
viskozita	nápoje, cesto
želatínovanie	salámy, želatínové zákusky
súdržnosť	povrchovoupravované produkty, cesto
štruktúrne vlastnosti	povrchovoupravované potraviny
rozpustnosť	nápoje

1 - property, 2 - applications.

trypsín, α -chymotrypsín, pepsín (Sigma) a kyslá fungálna proteáza (Gist-brocade). Penivosť po hydrolýze sa zvýšila, okrem hydrolyzátu, pri ktorom sa použil trypsín. Po hydrolýze s Alcalase získali frakciu, ktorá vykazovala lepšiu penivosť aj stabilitu peny ako neupravované alebo tepelne denaturované srvátkové proteíny a tiež ako vaječný bielok. Zlepšenie penivosti v dôsledku limitovanej proteolýzy pripísali zvýšeniu obsahu polypeptidov, čo umožňuje prijať viac vzduchu. Limitovaná proteolýza však môže penivosť a stabilitu vznikajúcej peny ovplyvňovať rôznym spôsobom. Frakcie získané hydrolýzou chymotrypsínom, trypsínom a Alcalase vytvárali stabilnejšiu penu ako kontrola, ale po hydrolýze pepsínom sa stabilita peny znížila. Rovnako už Kuehler a Shine [29] uviedli, že proteolytickou hydrolýzou pomocou prolázy, pepsínu a pronázy sa zlepšila penivosť, ale vznikajúca pena bola menej stabilná ako v pôvodnej vzorke. Caessens a kol. [22] sledovali zmenu peniacich, emulzných a povrchovoaktívnych vlastností hovädzieho β -kazeínu po hydrolýze plazmínom pri dvoch pH. Získané frakcie rozdelili do troch základných skupín: hydrofóbnej, amfipatickej a hydrofilnej. Pri pH 4,0 mali všetky frakcie lepšie peniace vlastnosti v porovnaní s pôvodným β -kazeínom. Hlavne hydrofóbne frakcie vytvárali pri tomto pH nevločkovú penu, čo naznačuje zaujímavú možnosť ich aplikácie v kvasených kyslých potravinách. V hydrofilnej frakcii namerali takmer nezmenené povrchové napätie pri pH 6,7. Amfipatické frakcie, obsahujúce peptidy z centrálnej časti β -kazeínu, mali pri pH 6,7 vyššie povrchové napätie a boli schopné tvoriť penu. Väčšina frakcií tvorila vločkové disperzie. V hydrofilnej frakcii sa tvorili väčšie emulzné kvapky, ktoré sa rýchlo rozvrstvi. Len jedna hydrofóbna frakcia tvorila stabilnú emulziu. Krause a Schwenke [26] sledovali zmenu povrchovoaktívnych a emulzných vlastností legumínu z fazuľových bôbov po hydrolýze trypsínom. Závislosť zmeny povrchového napätia od doby trvania hydrolýzy rozdelili do troch fáz. Najväčší pokles povrchového napätia na jednotku času hydrolýzy pozorovali počas prvej fázy, v druhej fáze sa rýchlosť zmeny povrchového napätia pomaly znížila, až sa nakoniec ustálila na konštantnej hodnote. Zatiaľ čo povrchové napätie kontinuálne klesalo so stúpajúcim obsahom voľných aminokyselín, zlepšenie emulgačných vlastností pozorovali len v jeho určitom špecifickom rozsahu.

Viskozita a želatínovanie

Vo všeobecnosti môže enzýmová hydrolýza drasticky redukovať viskozitu proteínového roztoku a súčasne môže ovplyvňovať tepelné želatínovanie. Sato [27] sledoval tieto zmeny pri tepelnej úprave a proteolytickom trávení srvátkových proteínov trypsínom. Proteolýza vyvolala želatínovanie roztoku srvátkového proteínového izolátu po zahriatí na 70 °C a následnom

ochladiť na 20 °C. Želatínovanie vyvolané pôsobením proteáz mohlo byť spôsobené čiastočnou hydrolyzou získaných rozpustných agregátov a súčasne interakciami medzi proteínmi. Zistil, že tepelná úprava vyvolala mimoriadnu agregáciu srvátkových proteínov, ktorá bola závislá od stupňa hydrolyzy. Ďalšia hydrolyza trypsínom spôsobila počas zahrievania viac koaguláciu ako želatínovanie.

Hydrofóbnosť a horká chuť

Ďalšia vlastnosť, ktorú môže výrazne ovplyvňovať hydrolyza je hydrofóbnosť. Hydrolyza peptidových väzieb môže spôsobiť odkrytie hydrofóbných skupín aminokyselín, predtým uzatvorených v micelách, na základe čoho by sa mohlo predpokladať lineárne stúpanie hydrofóbnosti so stupňom hydrolyzy. Tento predpoklad sa potvrdil pri hydrolyze srvátkových proteínov α -chymotrypsínom, ale nie inými enzýmami, ako sú napríklad hovädzí trypsín, Alcalase alebo Neutrase (Novo Industri) [21]. Z týchto výsledkov možno usúdiť, že α -chymotrypsín katalyzoval hydrolyzu peptidových väzieb hydrofóbných aminokyselín fenylalanín, tyrozín, tryptofán a leucín, ktorých uvoľnenie mohlo zvýšiť hydrofóbnosť hydrolyzáta. Pri hydrolyze zvyšnými tromi sledovanými enzýmami stúpala hydrofóbnosť so stupňom hydrolyzy len po určitú hranicu a potom znovu klesla. Túto skutočnosť možno vysvetliť hydrofóbnymi interakciami medzi jednotlivými uvoľnenými aminokyselinami. S produkciou a akumuláciou horkých peptidov v hydrolyzáte úzko súvisí vznik horkej chuti. Súvislosť medzi akumuláciou horkých peptidov a horkou chuťou potvrdili výsledky, ktoré dosiahol Lovsin-Kukman pri hydrolyze sójových proteínov pomocou Alcalase (Novo Industri) [30]. Gomez [31] pri výrobe „Hispanico“ syra z pasterizovaného mlieka zistil lineárnu závislosť medzi horkou chuťou a obsahom hydrofóbných peptidov. Vznik horkej chuti však nezávisí len od stupňa hydrolyzy, ale aj od použitého substrátu. Z kazeinátu sodného sa nehorké hydrolyzáty použitím rôznych priemyselne využívaných proteáz (Corolase L10, Maxatase, Corolase PS, Novozym) podarilo získať len pri nízkych stupňoch hydrolyzy (10-12). Pri hydrolyze kazeínu zo syroviny hydrolyzáty vykazovali nízku hladinu horkosti aj pri vyšších stupňoch hydrolyzy (55) [32]. Horkú chuť potravín možno eliminovať zabránením akumulácie týchto peptidov.

Jedným zo spôsobov je použitie aminopeptidáz, ktoré ich hydrolyzujú na nižšie peptidy, prípadne voľné aminokyseliny, napr. aminopeptidáza produkovaná *Aeromonas caviae* T-64 [33]. Pri zrení syrov sa ako účinné ukázalo použitie niektorých rodov laktobacilov - *L. plantarum* ESI144, *L. paracasei* subsp. *paracasei* ESI207 [9]. Na základe výsledkov Gobbettiho [34] možno podobný účinok predpokladať aj u aminopeptidázy izolovanej z *Pseudo-*

monas fluorescens ATCC 948, alebo podľa Torgersena [11], Hayashiho [12] a Březinu [35] u extracelulárnych aminopeptidáz *Brevibacterium linens*.

Ďalším spôsobom zabránenia akumulácie horkých peptidov je ich kondenzácia na nerozpustné precipitáty reakciou katalyzovanou proteázami. Stevenson a kol. [36] zistili, že táto reakcia uspokojivo prebieha len v zmesiach obsahujúcich vysoký podiel hydrofóbných peptidov. Takúto zmes možno získať izoláciou horkých zložiek z hydrolyzátu absorpciou alebo inou metódou. Získaný horký extrakt sa po úprave kondenzačnou reakciou, katalyzovanou proteolytickým enzýmom, môže vrátiť späť do hydrolyzátu, aby sa zachovala jeho nutričná hodnota, alebo sa môže použiť ako prídavok do iných potravín.

Biologická účinnosť a alergénnosť

Enzýmovou hydrolyzou kazeínov a srvátkových proteínov môžu vznikáť biologicky aktívne peptidy. Napr. inhibítory enzýmu potrebného pre vznik angiotenzínu získané hydrolyzou mliečnych proteínov [37], fragmenty s antimikrobiálnou aktivitou po hydrolyze α_s -kazeínu [38], peptidy s narkotickými účinkami izolované z hydrolyzovaného kazeínu [39] alebo biologicky aktívne peptidy s antitrombotickou aktivitou [40].

Alergénnosť potravín je spôsobená špecifickými peptidmi alebo proteínmi a možno ju ovplyvňovať enzýmovou hydrolyzou [41]. Watanabe [42] izoloval a určil štruktúru alergénneho peptidu vznikajúceho hydrolyzou gluténu chymotrypsínom. Pôsobením aktinázy, kolagenázy a transglutaminázy pripravil hypoalergénnu pšeničnú múku [43,44]. Nakamura a kol. [45] pripravili hypoalergénny produkt hydrolyzou kazeínu použitím proteázy z *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus* sp. a proteázy-S z *Bacillus* sp. Yoshimaru a kol. [46] sa zaoberali identifikáciou proteolytických enzýmov degradujúcich ovalbumín, hlavný alergén vaječného bielka, ako aj ich mikrokapsuláciu pre orálne použitie.

Záver

Uvedený prehľad naznačuje, že je dostatok teoretických poznatkov z oblasti enzýmovej hydrolyzy bielkovín. Z hľadiska prístupnosti enzýmov a teoretických poznatkov sú dobré predpoklady pre uplatnenie proteolýzy v technológii výroby potravín. Pomerne málo poznatkov je však z praktickej aplikácie proteáz v konkrétnych prípadoch. Limitujúcou je aj skutočnosť, že udržanie konštantných podmienok pri hydrolyze a reprodukovateľnosť procesu je ešte stále problémom. V niektorých krajinách obmedzuje použitie

enzýmov platná legislatíva alebo striktné pridržiavanie sa tradičných výrobných postupov. Vzhľadom na tieto skutočnosti očakávame postupný vývoj v produkcii potravín založenej na proteolýze, ale tento vývoj nebude prevratný. Skôr sa bude jednať o menšie výroby produktov so špeciálnymi vlastnosťami, napr. pre ochucovanie potravín alebo výrobky s požadovanými výživovými a funkčnými vlastnosťami.

Literatúra

1. WASSERMAN, B. P. - MONTVILLE, T. J. - KORWEK, E. L. - HOGAN, J. D.: Food biotechnology. Food Technology, 42, 1988, č. 1, s. 133-146.
2. OLSEN, H. S.: Enzymes in food processing. In: Biotechnology. Ed. Rehm, H.-J. - Reed, G. Vol. 9. Enzymes, Biomass, Food and Feed. Weinheim, VCH 1995, s. 666-736.
3. Potravinový kódex SR. Vestník Ministerstva Pôdohospodárstva SR, čiastka 14 z 28. júna 1996.
4. ZEMANOVIČ, J. - SILLOVÁ, J. - ŠTOLFOVÁ, D.: Enzymová hydrolyza proteínov. Bulletin potravinárskeho výskumu, 30, 1991, č. 4, s. 291-297.
5. ANON.: Enzymes - fermentation. Food Technology, 39, 1985, č. 10, s. 80-84.
6. FROST, G. M.: Applications of enzymes in food. In: Biochemistry of food proteins. Ed. Hudson, B. J. F. London and New York, Elsevier Applied Science 1992, s. 307-362.
7. JAMES, J. - SIMPSON, B. K.: Application of enzymes in food processing. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 36, 1996, č. 5, s. 437-463.
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 carbohydrases. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45, 1997, č. 10, s. 4088-4095.
9. GOMEZ, M. J. - GAYA, P. - NUÑEZ, M. - MEDINA, M.: Debittering activity of peptidases from selected lactobacilli strains in model cheeses. Milchwissenschaft, 51, 1996, s. 315-319.
10. USTUNOL, Z. - ZESKER, T.: Relative proteolytic action of milk-clotting enzyme preparations on bovine α -, β - and κ -casein. Journal of Food Science, 61, 1996, č. 6, s. 1136-1137.
11. TORGERSEN, H. - SORHANG, T.: Peptide hydrolases of *Brevibacterium linens*, FEMS Microbiology Letters, 4, 1978, s. 151-153.
12. HAYASHI, K. - REVELL, D.F. - LAW, B. A.: Effect of partially purified extracellular serine proteinases produced by *Brevibacterium linens* on the accelerated ripening of Cheddar cheese. Journal of Dairy Science, 73, 1990, s. 579-583.
13. LEWIS, D. A. - LUH, B. S.: Application of actinidin from kiwifruit to meat tenderization and characterization of beef muscle protein hydrolysis. Journal of Food Biochemistry, 12, 1988, č. 3, s. 147-158.
14. TOMASCHOVÁ, J. - ZEMANOVIČ, J.: Proteinázy *Brevibacterium linens*. Bulletin potravinárskeho výskumu, 34, 1995, č. 1-2, s. 25-30.
15. TOMASCHOVÁ, J. - HAMPEL, W. - ZEMANOVIČ, J.: Purifikácia extracelulárnych proteináz *Brevibacterium linens* ATCC 9172, Bulletin potravinárskeho výskumu, 35, 1996, č. 4, s. 193-200.
16. ADLER-NISSEN, J.: Enzymic hydrolysis of food proteins. London and New York, Elsevier Applied Science Publishers 1986. 427 s.
17. ANDREWS, A. T.: Enzymic modification of dairy and other food proteins. In: Chemical

- aspects of food enzymes. Ed. Andrews, A. T. London, Royal Society of Chemistry 1987, s. 231-258.
18. DZIEZAK, J. D.: Enzymes: catalysts for food processes. *Food Technology*, 46, 1991, č. 1, s. 78-85.
 19. KALISZ, H. M.: Microbial proteinases. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 36, 1988, s. 1-65.
 20. MOHAMED, A. A. - EL-SAFY, M. S. - EL-ZAYAT, A. I. - ABU-EL-NOUR, A. M.: Acceleration of ras cheese ripening by using some proteolytic enzymes. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 17, 1989, č. 2, s. 337-347.
 21. MUTILANGI, W. A. M. - PANYAM, D. - KILARA, A.: Hydrolysates from proteolysis of heat-denatured whey proteins. *Journal of Food Science*, 60, 1995, č. 5, s. 1104-1109.
 22. CAESSENS, P. - GRUPPEN, H. - VISSER, S. - VAN AKEN, G. A. - VORAGEN, A. G. J.: Plasmin hydrolysis of β -casein: foaming and emulsifying properties of the fractionated hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1997, č. 8, s. 2935-2941.
 23. GE SHI-JUN - HONG BAI - YUAN HONG-SHEN - ZHANG LONG-XIANG: Continuous production of high degree casein hydrolysates by immobilized proteases in column reactor. *Journal of Biotechnology*, 50, 1996, č. 2/3, s. 161-170.
 24. ZEMANOVIČ, J. - ŠTOLFOVÁ, D. - SILLOVÁ, J.: Enzymová hydrolyza kazeínu v membránovom reaktore. *Bulletin potravinárskeho výskumu*, 30, 1991, č. 4, s. 299-304.
 25. ALTHOUSE, P. J. - DINAKAR, P. - KILARA, A.: Screening of proteolytic enzymes to enhance foaming of whey protein isolates. *Journal of Food Science*, 60, 1995, č. 5, s. 1110-1112.
 26. KRAUSE, J. P. - SCHWENKE, K. D.: Changes in interfacial properties of legumin from faba beans (*Vicia faba* L.) by tryptic hydrolysis. *Nahrung*, 39, 1995, č. 5/6, s. 396-405.
 27. SATO, K. - NAKAMURA, M. - NISHIYA, T. - KAWANARI, M. - NAKAJIMA, I.: Preparation and some properties of heat-treated whey protein hydrolysates. *Milchwissenschaft*, 51, 1996, s. 324-327.
 28. HAMADA, J. S.: Modification of food proteins by enzymatic methods. In: *Biochemistry of food proteins*. Ed. Hudson, B. J. F. London and New York, Elsevier Applied Science 1992, s. 249-270.
 29. KUEHLER, C. A. - SHINE, C. M.: Effect of enzymatic hydrolysis on some functional properties of whey protein. *Journal of Food Science*, 39, 1974, č. 2, s. 379-382.
 30. LOVSIN-KUKMAN, I. - ZELENIK-BLATNIK, M. - ABRAM, V.: Bitterness intensity of soybean protein hydrolysates-chemical and organoleptic characterization. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 203, 1996, č. 3, s. 272-276.
 31. GOMEZ, M. J. - GARDE, S. - GAYA, P. - MEDINA, M. - NUNEZ, M.: Relationship between level of hydrophobic peptides and bitterness in cheese made from pasteurized and raw milk. *Journal of Dairy Research*, 64, 1997, č. 2, s. 289-297.
 32. VEGARUD, G. E. - LANGSRUD, T.: The level of bitterness and solubility of hydrolysates produced by controlled proteolysis of caseins. *Journal of Dairy Research*, 56, 1989, č. 3, s. 375-379.
 33. IZAWA, N. - TOKUYASU, K. - HAYASHI, K.: Debittering of protein hydrolysates using *Aeromonas caviae* aminopeptidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1997, č. 3, s. 543-545.
 34. GOBBETTI, M. - COSSIGNANI, L. - SIMONETTI, M. S. - DAMIANI, P.: Effect of the aminopeptidase from *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948 on synthetic bitter peptides, bitter hydrolysate of UHT milk proteins and on the ripening of Italian Caciotta type cheese. *Lait*, 75, 1995, s. 169-179.
 35. BŘEZINA, P. - MUSIL, P. - KOPEČNÝ, J. - PLOCKOVÁ, M. - RAUCH, P.: Isolation and properties of proteinases and aminopeptidases of *Brevibacterium linens*. *Scientific Papers*

- of the Institute of Chemical Technology Prague, E61. Food, 1987, s. 149-160.
36. STEVENSON, D. E. - OFMAN, D. J. - MORGAN, K. R. - STANLEY, R. A.: Protease-catalyzed condensation of peptides as a potential means to reduce the bitter taste of hydrophobic peptides found in protein hydrolysates. *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 1998, s. 100-110.
 37. MEISEL, H. - GOEFFERT, A. - GÜNTHER, S.: ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft*, 52, 1997, č. 6, s. 307-311.
 38. ZUCHT, H. D. - RAIDA, M. - ADERMANN, K. - MÄGERT, H. J. - FORSMAN, W. G.: Casocidin-I a casein- α_{S2} derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Letters*, 372, 1995, č. 2-3, s. 185-188.
 39. MEISEL, H.: Chemical characterization an opoid activity of an exorphin isolated from in vivo digests of casein. *FEBS Letters*, 196, 1986, č. 2, s. 223-227.
 40. JOLLÉS, P. - LÉVY-TOLEDANO, S. - FIAT, A.-M. - SORIA, C. - GILLESSEN, D. - THOMAIDIS, A. - DUNN, F. W. - CAEN, J. P.: Analogy between fibrinogen and casein: Effect of an undecapeptide isolated from κ -casein on platelet function. *European Journal of Biochemistry*, 158, 1986, s. 379-382.
 41. GESTIN, M. - DESBOIS, C. - LE HUEROU-LURON, I. - ROMÉ, V. - LE DRÉAN, G. - LENGAGNE, T. - ROGER, L. - MENDY, F. - GUILLOTEAU, P.: In vitro hydrolysis by pancreatic elastases I and II reduces β -lactoglobulin antigenicity. *Lait*, 77, 1997, č. 3, s. 399-409.
 42. WATANABE, M. - TANABE, S. - SUZUKI, T. - IKEZAWA, Z. - ARAI, S.: Primary structure of an allergenic peptide occurring in the chymotryptic hydrolysate. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 59, 1995, č. 8, s. 1596-1597.
 43. WATANABE, M. - SUZUKI, T. - IKEZAWA, Z. - ARAI, S.: Controlled enzymatic treatment of wheat proteins for production of hypoallergenic flour. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 58, 1994, č. 2, s. 388-390.
 44. WATANABE, M. - IKEZAWA, Z. - ARAI, S.: Fabrication and quality of hypoallergenic wheat products. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 58, 1994, č. 11, s. 2061-2065.
 45. NAKAMURA, T. - SYUKUNOBE, Y. - SKURAI, T. - IDOTA, T.: Enzymatic production of hypoallergenic peptides from casein. *Milchwissenschaft*, 48, 1993, č. 1, s. 11-14.
 46. YOSHIMARU, T. - MATSUMOTO, K. - KURAMOTO, Y. - YAMADA, K. - SUGANO, M.: Preparation of microcapsulated enzymes for lowering the allergenic activity of foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 1997, č. 10, s. 4178-4182.

Do redakcie došlo 22.1.1998.

Enzyme hydrolysis of proteins in food production

LUKÁČOVÁ, V. - ZEMANOVIČ, J.: *Bull. potrav. Výsk.*, 37, 1998, p. 19-31.

SUMMARY. The review deals with areas of food industry, in which proteolysis is used for improving product properties, or for accelerating of food processes. The effect of proteolysis on physico-chemical, biological and organoleptic properties of the products is presented.

KEYWORDS: protease, proteolyse, protein hydrolysate, functional properties