

Aleksandra Karmańska, Anna Wędzisz, Milena Bielicka

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW PROTEOLITYCZNYCH ORAZ SUBSTANCJE LOTNE W WYBRANYCH GATUNKACH GRZYBÓW UPRAWOWYCH*)

Zakład Bromatologii Katedry Toksykologii i Bromatologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. *A. Wędzisz*

Określono poziom aktywności proteolitycznej w owocnikach bocznika ostrygowatego. Badano grzyby mrożone, liofilizowane i suszone. Zastosowano metodę Kunitza w obecności kazeiny jako substratu i metodę Ansona w obecności hemoglobiny. Enzymy proteolityczne grzybów wykazywały większe powinowactwo do hemoglobiny niż kazeiny. Proces liofilizacji i suszenia obniżał aktywność o 30% zaś mrożenie grzybów powodowało obniżenie aktywności o 70%. Zidentyfikowano 224 substancji lotnych.

Hasła kluczowe: aktywność proteolityczna, grzyby uprawowe.
Key words: proteolitic activity, cultivated mushrooms.

Grzyby podobnie jak inne żywe organizmy zawierają układy enzymatyczne. Do enzymów grzybów wielkoowocnikowych zalicza się m. in. laktazę, peroksydazę, oksydazę ponadtlenkową, ksylazy, arabinozy, pektynazy, proteazy, β -2,3 glukanazy (1, 2, 3).

Zastępowanie procesów chemicznych enzymatycznymi polepsza jakość produktów spożywczych oraz przyspiesza procesy technologiczne. Do znanych preparatów proteolitycznych produkowanych na skalę przemysłową należą preparaty enzymatyczne pochodzenia (4, 5, 6):

- roślinnego: papaina, bromelina, ficyna
- zwierzęcego: trypsyna, pepsyna, pankreatyna;
- „pleśniowego”: z hodowli *Rhizopus* i *Aspergillus*;
- bakteryjnego: z hodowli *Bacillus* i *Streptomyces*.

Preparaty enzymów proteolitycznych mają szerokie zastosowanie w przemyśle piekarniczym, mleczarskim, mięsnym, garbarskim, farmaceutycznym i medycynie.

W poszukiwaniu nowych źródeł enzymów zwrócono uwagę na ich wysoki poziom w grzybach wielkoowocnikowych. *Łobanow* i *Elmanow* (2) badali grzyb *Panus rudis*. Stwierdzili że grzyb ten hydrolizuje kolagen oraz włókna mięsa w takim stopniu, jak aktywowana cysteiną papaina.

Wędzisz i *Chmielnicka* (2) stwierdziły wysoką aktywność proteolityczną w rydzu, gąsce zielonce i gąsce niekształtnej.

*) Praca finansowana przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi (statuty 503-3045-2).

Jedną z głównych cech charakterystycznych dla grzybów wielkoowocnikowych jest aromat. Bogactwo zapachowe powoduje, że grzyby są cennym dodatkiem urozmaicającym potrawy. Już w starożytności przysmakiem godnym cesarskiego stołu był muchomor cesarski „pokarm bogów”. Grzybem mającym wysokie walory smakowe zapachowe jest trufła.

Za aromaty grzybowe odpowiedzialne są substancje zawarte w grzybach z kilku grup chemicznych – głównie związki organiczne zawierające siarkę, terpeny oraz pochodne kwasów tłuszczowych (7, 8, 9).

Celem pracy było oznaczenie aktywności proteolitycznej w grzybach uprawowych bocznika ostrygowatym, bocznika mikołajkowymi pieczarce dwuzarodnikowej oraz identyfikacja substancji lotnych zawartych w owocnikach badanych grzybów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły owocniki bocznika ostrygowatego *Pleurotus ostreatus*, bocznika mikołajkowego *Pleurotus eryngii* pochodzące z prywatnej wytwórni *W. Rusieckiego* z Woli Łaskiej oraz pieczarki dwuzarodnikowej *Agaricus bisporus* z Instytutu Sadownictwa w Skierniewicach. Badano grzyby świeże, liofilizowane, suszone i mrożone.

Zakres badań analitycznych obejmował oznaczenie:

- wilgoci za pomocą metody stosowanej w analizie żywności (10);
- aktywności proteolitycznej wyciągów z grzybów metodą *Kunitza* w obecności kazeiny jako substratu (2, 11, 12). Do próbek wprowadzono 1 cm³ wyciągu grzybowego, 1 cm³ roztworu kazeiny podgrzanego do temp. 37°C, 1 cm³ buforowego roztworu fosforanowego. Z badań *Wędzisz* i *Chmielnickej* (2) wynika, że w przypadku kazeiny optymalny czas trawienia enzymami proteolitycznymi wynosi 2 godz. Po okresie inkubacji dodawano 3 cm³ roztworu kwasu trichlorooctowego i inkubowano 30 min a następnie wirowano. Do próbek odmierzano po 1 cm³ supernatantu, 1 cm³ roztworu siarczanu miedziowego, 8 cm³ wodorotlenku sodowego 3 cm³ odczynnika *Folina*. Absorbancję mierzono po 10 min za pomocą spektrofotometru VIS 6000 firmy *Krüss* przy dł. fali 750 nm.

- aktywności proteolitycznej metodą *Ansona* w obecności substratu hemoglobiny (2). Do oznaczeń wprowadzono takie same ilości odczynników jak w metodzie *Kunitza*. W przypadku hemoglobiny optymalny czas trawienia wynosi 30 min (2). Do badań przygotowano wyciągi wodne grzybów świeżych, mrożonych suszonych i liofilizowanych.

Badanie składu chemicznego frakcji lotnych badanych grzybów wykonano za pomocą metody SPME (Solid Phase MicroExtraction).

Rozdrobnione grzyby umieszczano w fiolkach do SPME. Próbkę stabilizowano przez 40 min. na łaźni wodnej o temp. 60°C.

Do mikroekstrakcji używano szare, 2 cm włókno trójfazowe DVB/Carboxen/PDMS (divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane) o grubości 30/50 µm. Czas mikroekstrakcji wynosił 30 min. Zaabsorbowane na włóknie lotne składniki desorbowano w dozowniku SSL chromatografu gazowego. Czas desorpcji wynosił 5 min w temp. 250°C.

Warunki analizy za pomocą chromatografii gazowej:

- chromatograf gazowy – firmy Fisons Instruments produkcji włoskiej typ GC 8000 z dozownikiem SSL i detektorem masowym MD 800;
- kolumna chromatograficzna – 30 mm kolumna kapilarna firmy Restek o średnicy zewnętrznej 0,32 mm wypełniona fazą stacjonarną Stabilwax – DA o grubości filmu 0,25 μm ;
- programowanie temp – 40°C ÷ 245°C (30 min izotermy po programie);
- wzrost temperatury – 4°C/min;
- przepływ gazu nośnego helu – 0,8 cm³/min;
- temperatura źródła jonów – 200°C;
- sposób jonizacji – EI⁺;
- energia jonizacji – 70 eV.

Substancje lotne analizowano za pomocą chromatografu gazowego, aparat Carlo-Erba Instruments typu mega HRGC 5300 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym FID i dozownikiem SSL.

Identyfikację składników lotnych wykonano przez porównanie:

- indeksów retencji analizowanych składników z literaturowymi indeksami retencji oraz indeksami zamieszczonymi w bazie danych Instytutu Podstaw Chemii Żywności PŁ (RI);
- widm masowych analizowanych składników z widmami masowymi substancji wzorcowych znajdujących się w komputerowej bibliotece NIST oraz zawartymi w bazie danych Instytutu Podstaw Chemii Żywności PŁ (MS).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Poziom aktywności proteolitycznej w badanych grzybach oznaczony za pomocą metody *Kunitza* w obecności kazeiny jako substratu i *Ansona* w obecności hemoglobiny zamieszczono w tab. I i II. Z danych obrazujących poziom tych enzymów we wszystkich badanych grzybach w zależności od użytych substratów wynika, że enzymy w nich zawarte wykazują większe powinowactwo do hemoglobiny niż kazeiny.

Najwyższy poziom stwierdzono w grzybach świeżych. Suszenie grzybów w temp. 20°C oraz liofilizacja obniżała aktywność o 30% w stosunku do grzybów świeżych, mrożenie zaś o 70%.

Tab e l a I. Aktywność proteolityczna badanych grzybów metoda *Kunitza*

Tab l e I. Proteolytic activity of examined mushrooms determined by the *Kunitz*

Badany gatunek	Aktywność wyrażona (mmol) uwolnionej tyrozyny w czasie 1 min/g s.m.			
	świeże grzyby	susz	liofilizat	grzyb mrożony
Bocznik mikołajkowy	5,51 ± 0,17	3,36 ± 0,19	3,70 ± 0,18	1,46 ± 0,29
Bocznik ostrygowaty	5,80 ± 0,22	3,48 ± 0,28	3,84 ± 0,23	1,78 ± 0,26
Pieczarka dwuzarodnikowa	5,35 ± 0,37	3,24 ± 0,37	3,54 ± 0,21	1,38 ± 0,17

Tabela II. Aktywność proteolityczna badanych grzybów metodą Ansona

Table II. Proteolytic activity of examined mushroom determined by Anson

Badany gatunek	Aktywność wyrażona (mmol) uwolnionej tyrozyny w czasie 1 min/g s.m.			
	świeże grzyby	susz	liofilizat	grzyb mrożony
Bocznik mikotajkowy	18,43 ± 0,26	12,34 ± 0,19	12,54 ± 0,18	5,06 ± 0,29
Bocznik ostrygowaty	19,46 ± 0,17	12,56 ± 0,28	12,76 ± 0,18	5,16 ± 0,26
Pieczarka dwuzarodnikowa	18,32 ± 0,23	12,25 ± 0,37	12,28 ± 0,22	4,95 ± 0,17

Za pomocą chromatografii gazowej w badanych owocnikach zidentyfikowano 224 związki chemiczne (tab. III). W większych ilościach występowały następujące substancje lotne:

- palmitynian, linolean, oleinian etylu;
- anetol i aldehyd anyżkowy;
- maślan benzylu i amylu ester który jest składnikiem zapachu jaśminu;
- karwon;
- linalol nienasyconego trzeciorzędowego alkoholu terpenowego;
- krezol;
- octan metylu o zapachu owoców;
- octan bornylu;
- limonen – węglowodór o zapachu pomarańczy;
- fenchon;
- benzoesanu etylu;
- oktanon-3 i 3-oktanol, które stwierdzono w boczniku ostrygowatym;
- 1-oktenu-3-ol o zapachu grzybowym;
- saflor;
- alkohol benzylowy.

Tabela III. Skład chemiczny frakcji lotnych badanych grzybów

Table III. Chemical contents of volatile components in examined mushroom

Numer piklu	Składnik	RI	BM% area	BO% area	PD% area	Sposób identyf.
1	acetaldehyde	612	0,76	0,52	0,20	MS,RI
2	heptane	698	0,09	0,16	0,14	MS,RI
3	octane	795	0,04	0,09	0,19	MS,RI
4	4-methyloctan	820	0,24	0,51	–	MS
6	ethyl acetate	925	–	–	1,18	MS,RI
7	ethanol	950	1,55	2,49	0,52	MS,RI
11	α -thujene	1078	0,23	0,46	0,24	MS,RI
15	canphene	1130	0,07	0,16	–	MS,RI
16	hexanal	1139	–	0,27	–	MS,RI
17	β -pinene	1168	0,13	0,23	0,15	MS,RI

T a b e l a III. Skład chemiczny frakcji lotnych badanych grzybów (*cd.*)T a b e l e III. Chemical contents of volatile components in examined mushroom (*cont.*)

Numer piku	Składnik	RI	BM% area	BO% area	PD% area	Sposób identyf.
20	isoamyl acetate	1179	0,04	0,10	0,06	MS,RI
22	2-carene	1183	–	–	0,21	MS,RI
24	3-carene	1195	0,18	0,32	0,12	MS,RI
25	β -myrcene	1199	0,21	0,45	0,13	MS,RI
28	α -terpinene	1230	0,09	0,08	0,07	MS,RI
31	limonene	1256	1,12	5,04	1,64	MS,RI
32	2-heptanone	1258	0,65	–	1,33	MS,RI
33	n-amyl acetate	1260	0,4	–	0,19	MS,RI
34	β -phellandrene	1261	–	0,15		MS,RI
35	1,8-cineole	1262	0,37	0,73	0,52	MS,RI
36	n-butyl n-butyrate	1263	0,11	0,18	0,16	MS,RI
39	2-n-pentylfuran	1268	–	0,10	–	MS,RI
40	ethyl hexanoate	1270	0,03	0,51	0,56	MS,RI
41	β -(E)-ocimene	1279	–	0,11		MS,RI
43	3-octanone	1305	–	0,52	–	MS,RI
45	p-cymene	1316	1,60	5,00	2,86	MS,RI
46	isoamyl n-butyrate	1323	0,80	–	0,96	MS,RI
47	terpinolene	1328	0,12	0,21	0,18	MS,RI
48	isoamyl isovalerate	1332	0,24	0,42	0,34	MS,RI
51	n-amyl butyrate	1357	1,23	1,94	1,78	MS,RI
52	2-heptanol	1360	–	0,20	–	MS,RI
54	5-nonanone	1365	0,11	0,25	0,35	MS,RI
55	ethyl heptanoate	1371	0,34	0,27	0,25	MS,RI
56	6-methyl 5-hepten-2-one	1374	0,41	0,84	0,62	MS,RI
57	n-amyl isovalerate	1381	0,42	0,64	0,56	MS,RI
58	cis-rose oxide	1408	0,15	0,24	0,22	MS,RI
60	trans-rose xide	1416	0,13	0,04	0,04	MS,RI
63	allyl-hexanoate	1425	0,25	0,42	0,35	MS,RI
64	methyl octanoate	1428	0,30	0,40	–	MS,RI
65	fenchone	1430	0,32	0,39	0,70	MS,RI
66	3-octanol	1434	0,03	0,62	0,07	MS
68	hexyl butyrate	1446	0,24	0,26	0,07	MS,RI
69	α -thujone	1479	0,04	0,13	–	MS,RI
72	ethyl octanoate	1497	0,49	0,36	0,49	MS,RI

Tabela III. Skład chemiczny frakcji lotnych badanych grzybów (*cd.*)Table III. Chemical contents of volatile components in examined mushroom (*cont.*)

Numer piku	Składnik	RI	BM% area	BO% area	PD% area	Sposób identyf.
77	1-octen-3-ol	1503	0,86	0,93	0,88	MS
78	n-heptanol	1510	0,29	0,20	–	MS,RI
79	p-menthan-3-one=menton	1515	0,29	0,93	0,33	MS
81	fenchyl acetate	1523	0,25	0,26	0,04	MS,RI
83	3-furaldehyde	1529	0,21	0,48	0,37	MS,RI
84	p-menthan-3-one=isomenton	1531	0,40	0,57	0,55	MS
85	methyl n-nonanoate	1532	0,34	0,17	0,65	MS,RI
86	2-ethylhexanol	1532		0,35		MS
87	decanal	1551	–	0,13	–	MS,RI
88	węglowodór seskwiterpenowy	1559	0,37	–	0,24	MS
89	camphor	1567	0,31	0,82	0,75	MS,RI
90	nonyl ol	1571	0,11	–	0,05	MS
91	2-acetylfuran	1575	0,03	0,13	0,20	MS
92	benzaldehyde	1577	2,26	4,83	2,68	MS,RI
93	methyl acetate (isomer)	1581		–	1,00	MS,RI
94	6-undecanone	1584	0,08	–	0,67	MS
95	4-undecanone	1588	0,08	0,13	0,19	MS
96	isobutyl octanoate	1590	0,37	0,35	0,64	MS,RI
98	p-menthan-2-one	1597	0,28	0,28	0,33	MS
99	linalool	1600	2,78	4,01	3,00	MS,RI
100	methyl acetate (isomer)	1602	1,85	1,42	0,54	MS,RI
102	methyl acetate (isomer)	1613	–	–	1,89	MS,RI
103	3-undecanone	1617	0,03	0,05	0,23	MS
104	isopulegol	1618	1,12	0,69	0,46	MS,RI
105	isobornyl acetate	1620	1,12	0,66	0,80	MS,RI
106	bornyl acetate	1621		0,33	0,05	MS,RI
107	n-nonyl acetate	1627	0,44	–	0,62	MS,RI
111	menthol (isomer)	1639	–	0,15	0,10	MS,RI
112	methyl decanoate	1641	0,36	0,15	0,43	MS,RI
113	2-undecanone	1643	0,33	0,67	0,84	MS,RI
114	terpinen-4-ol	1644	0,18	–	–	MS,RI
115	p-menth-8-en-2-one	1645	0,06	0,10	0,04	MS
117	methyl benzoate	1649	3,29	3,58	2,77	MS,RI
122	2,4-decadienal	1664	0,18	–	0,34	MS

Tabela III. Skład chemiczny frakcji lotnych badanych grzybów (*cd.*)Table III. Chemical contents of volatile components in examined mushroom (*cont.*)

Numer piku	Składnik	RI	BM% area	BO% area	PD% area	Sposób identyf.
123	4-thujen-2 α -yl acetate	1667	0,07	0,10	0,09	MS
125	acetophenone	1670	1,04	1,76	1,92	MS,RI
126	1-undecanol lub 10-undecen-1-al.	1681	0,21	0,14	0,25	MS
127	ethyl benzoate	1693	2,11	2,77	2,04	MS,RI
128	estragole	1709	0,42	0,28	0,51	MS,RI
129	3-furanmethanol	1712	–	–	0,20	MS,RI
131	phenylacetaldehyde diethyl acetal	1720	0,86	1,10	0,80	MS
132	benzyl formate	1723	0,68	–	0,40	MS,RI
133	α -terpinyl acetate	1738	–	–	0,17	MS,RI
135	α -terpineol	1750	0,11	0,16	0,06	MS,RI
142	carvone	1765	1,17	1,47	1,55	MS,RI
144	bromostyrene	1771	0,33	0,29	0,39	MS
148	(Z)-anethole	1785	0,24	0,27	0,03	MS,RI
152	methyl salicylate	1799	0,84	0,92	0,78	MS,RI
153	bromostyrene (isomer)	1811	5,72	5,13	4,20	MS
154	benzyl butyrate	1817			3,40	MS
155	benzeneacetic acid ethyl ester	1821	0,55	0,50	0,78	MS,RI
157	ethyl salicylate	1842	0,42	0,28	0,49	MS,RI
158	2,4-decadienal (isomer)	1843		0,38	–	MS,RI
159	2-phenylethyl acetate	1845	0,19	0,21	0,19	MS,RI
160	(E)-anethole	1847	1,39	0,91	2,19	MS,RI
162	γ -ionone	1857	–	0,80	–	MS,RI
163	α -isomethylionone	1861	0,33		0,39	MS,RI
164	α -ionone	1861			0,03	0,08
167	cis-geranylacetone	1869	–	–	0,39	MS,RI
169	saflor	1878	7,55	6,00	7,30	MS,RI
170	benzyl alcohol	1889	0,33	1,28	4,22	MS,RI
171	2-phenylethylbutyrate	1893	0,45		0,06	MS,RI
172	isobutylphenylacetate	1903	0,41	0,38	0,51	MS,RI
173	isoamyl benzoate	1940	0,47	0,46	0,87	MS,RI
174	phenylethyl alcohol	1948	0,17	0,24	0,15	MS,RI
178	hexamethylbenzene	1999	0,06	0,28	0,05	MS
183	cresol (isomer)	2051	0,20	0,31	0,10	MS,RI
185	p-anisaldehyde	2056	0,74	1,12	0,84	MS,RI

Tabela III. Skład chemiczny frakcji lotnych badanych grzybów (*cd.*)Table III. Chemical contents of volatile components in examined mushroom (*cont.*)

Numer piku	Składnik	RI	BM% area	BO% area	PD% area	Sposób identyf.
186	isosafrol	2070	0,25	–	0,44	MS,RI
188	miristic acid ethyl ester	2079	0,21	0,27	–	MS,RI
190	octanoic acid	2015	–	0,27	–	MS
192	cresol	2036	0,19	0,23	–	MS,RI
193	cinnamaldehyde	2043	–	–	0,22	MS,RI
194	ethyl 9-oxo-nonanoate	2046	–	0,13	–	MS
197	ethyl pentadecanoate	2163	0,28	0,59	0,05	MS
199	bromonaphthalene	2179	0,16	0,13	0,18	MS
202	ethyl palmitate	2289	3,14	3,55	0,66	MS,RI
210	γ -lactone	2393	0,16	–	0,08	MS
213	ethyl stearate	2468	0,34	–	0,04	MS
215	ethyl octadecanoate	2515	–	0,22	–	MS
216	ethyl oleate	2542	19,83	1,65	0,47	MS
217	drimenol	2569	–	–	0,69	MS
218	ethyl linoleate	2598	4,12	1,45	9,22	MS
220	ester etylowy kwasu C18 2=	2685	0,18	–	0,08	MS
224	hexadecanoic acid	3081	–	–	3,48	MS
niezidentyfikowane			12,28	15,76	11,62	

BM – bocznik mikołajkowy; BO – bocznik ostrygowaty; PD – pieczarka dwuzarodnikowa.

WNIOSKI

1. Enzymy proteolityczne grzybów wykazują większe powinowactwo do hemoglobiny niż kazeiny.
2. Proces liofilizacji i suszenia obniża aktywność o 30%.
3. Mrożenie grzybów powoduje obniżenie aktywności o 70%.
4. W badanych grzybach rozdzielono 224 piki i zidentyfikowano 224 związki chemiczne.

A. Karmańska, A. Wędzisz, M. Bielicka

ACTIVITY OF PROTEOLYTIC ENZYMES AND VOLATILE SUBSTANCES IN CULTIVATED MUSHROOMS

Summary

Enzymes have been extensively used in various sectors of food industry. In the search for new enzyme sources, large-fruitbody mushrooms have proved to be of particular interest. The aim of the work was to determine the proteolytic activity of *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Agaricus bisporus*. The level

of the activity was determined according to Kunitz with casein substrate and according to Anson with haemoglobin substrate. Fresh, lyophilised, dried and frozen mushrooms were tested. The tests showed the highest proteolytic activity in the fresh mushrooms. The process of lyophilisation and drying resulted in a 30% reduction of the proteolytic activity, while freezing reduced the activity by 70% compared to fresh mushrooms. Proteolytic enzymes found in mushrooms show higher affinity to haemoglobin than to casein. There was identified 224 volatile substances.

PIŚMIENICTWO

1. Brodzińska Z., Lasota W.: Wyodrębnienie i wstępna charakterystyka enzymu proteolitycznego pierścieniaka *Stropharia rugosoannulata* Farlow ex Murr. Problemy Higieny. Materiały z VI Krajowego Zjazdu Mikologicznego. Warszawa 1980; 74-87. – 2. Wędzisz A., Chmielnicka J.: Aktywność enzymów proteolitycznych w grzybach jadalnych. Mikol. Stos., 1969; 2(4):13-21. – 3. Rozental L.: Katalaza grzybów. Roczn. PZH, 1951; 2: 319-323. – 4. Moralis H., Ramos C., Forgacs E., Jakob A., Cserkati T.: Enzyme production of *Pleurotus ostreatus* Evaluated by Three-way Principal Component Analysis. Engineering in Life Sciences, 2004; 165-170. – 5. Kudryavtseva O.A., Dunaevsky Ya.E., Kamzolkina O.V., Belozersky M.A.: Fungal Proteolytic Enzymes: Features of the Extracellular Proteases of Xylophilic Basidiomycetes. Mikrobiologiya, 2008; 77(6): 725-737. – 6. Datta A.: Purification and characterization of novel protease from solid substrate cultures of *Phanerochaeta chrysosporium*. J. Biol. Chem. 1992; 267(2): 728-732. – 7. Le Loch-Bonazzi C., Wolff A.: Characterization of the flavor properties of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*) and the influence of drying process. Lebensm-Wiss.Technol., 1991; 24(5): 386-390. – 8. Mau J., Lin Y.P., Chen P.T., Wu Y.H., Peng J.T.: Flavor compounds in king oyster mushrooms *Pleurotus eryngii*. J. Agric. Food Chem., 1998; 46(11): 4587-4591. – 9. Mau J.L., Hsiu C., Ma J.T., Song S.F.: Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. Food Chem. 2001; 73(2001): 461-466. – 10. Wędzisz A. (red.): Przewodnik do ćwiczeń z bromatologii. Łódź, 2000.
11. Ferrason E., Quillien L., Gueguen J.: Proteinase inhibitors from pea seeds: purification and characterization. J. Agric. Food Chem., 1997; 45: 127-131. – 12. Isola M., Franzoni L.: Studies on the proteolytic enzymes of potato tuber. Plant Physiol. Biochem., 1993; 31(2): 169-174.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1.