

Anna Jędrusek-Golińska, Józef Korczak, Dominik Kmiecik, Marzanna Hęś,
Anna Gramza

Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu, Katedra Technologii Żywnienia Człowieka

Wykorzystanie izolatów białkowych śruty rzepakowej do produkcji hydrolizatów

The use of protein isolates from deffated rapeseed meal for production of hydrolysates

Słowa kluczowe: izolaty białkowe, śruta rzepakowa, hydroliza kwasowa, skład chemiczny hydrolizatów, smakowitość hydrolizatów

Key words: protein isolates, rapeseed meal, acid hydrolysis, protein hydrolysates, chemical composition of hydrolysates, taste evaluation

Celem pracy było otrzymanie i zhydrolizowanie wyizolowanego ze śruty białka. W tym celu odtłuszczoną śrutę wytrząsano z 0,25% roztworem NaOH, strącano białko zawarte w supernatancie, a następnie poddawano je hydrolizie kwasowej. W śrucie i izolacie oznaczano zawartość białka, tłuszczu, błonnika, polifenoli, składników mineralnych i wody. Hydrolizaty scharakteryzowano pod względem zawartości białka, azotu α -aminowego, składników mineralnych, wody i soli. Obliczono również stopień hydrolizy oraz scharakteryzowano ich cechy sensoryczne. Zawartość azotu ogólnego (1,51 g/100 g) i aminowego (1,11 g/100 g) w hydrolizacie z izolatu była istotnie wyższa od wielkości tych parametrów oznaczanych w hydrolizacie śruty (odpowiednio 0,83 i 0,62 g/100 g), natomiast stopień hydrolizy kształtował się w obu przypadkach na podobnym poziomie (73,5 i 74,9%). Hydrolizat z izolatu zawierał ponadto mniejsze ilości soli (22,3%), popiołu (18,5%) i wody (71,3%). Uzyskane wyniki wskazują, że wyizolowane ze śruty rzepakowej białko stanowi dobry materiał do produkcji hydrolizatów, które mogłyby wzbogacać żywność w białko oraz dodatkowo poprawiać jej właściwości funkcjonalne.

The aim of the study was to produce the rapeseed protein isolates and to hydrolyse them. The protein was extracted from deffated rapeseed meal with 0.25% NaOH solution and then precipitated. The isolate was hydrolysed. The content of protein, fat, fibre, ash, dry matter and polyphenols were determined in the meal and in the isolate. Total nitrogen, amino nitrogen, ash, salt and dry matter were determined in both kinds of hydrolysates. Additionally, the degree of protein hydrolysis and sensory properties were evaluated. The results obtained show that the content of total nitrogen (1.51 g/100 g) and amino nitrogen (1.11 g/100 g) in hydrolysate obtained from protein isolate is significantly higher than in rapeseed meal hydrolysate (0.83 and 0.62 g/100 g, respectively); the degree of hydrolysis is on the same level in both products (73.5 and 74.9%, respectively). The content of salt, ash and water was lower (22.3, 18.5 and 71.3% respectively) in the hydrolysate of protein isolate. Rapeseed protein isolate seems to be a good source for production of hydrolysates which have a good nutritional value and some functional properties.

Wstęp

Białkowe produkty pochodzenia roślinnego są coraz szerzej stosowane w produkcji żywności. Wynika to zarówno z ich cech użytkowych, jak i czynników ekonomicznych. Do głównych zalet białkowych produktów roślinnych należy zaliczyć wysoką zawartość taniego i wartościowego biologicznie białka, dobre dyspergowanie wody, tworzenie żelów oraz właściwości adhezji, kohezji i tworzenia piany (Rutkowski i Kozłowska 1981).

Postęp w wykorzystaniu tych surowców nastąpił w latach 70. i związany był z opanowaniem technologii wytwarzania produktów wysokobiałkowych — koncentratów i izolatów. Przedmiotem głównego zainteresowania była co prawda soja, ale opublikowano też szereg prac dotyczących produkcji izolatów białkowych z rzepaku (Kozłowska i Sosulski 1972, Kozłowska i Borowska 1985, Rutkowski 1972). Stosowano różne metody ekstrahowania białka z odtłuszczonej śruty rzepakowej — poprzez działanie NaOH (Owen i Chichester 1971), alkaliczną ekstrakcję, a później strącanie białek kwasem (Girault 1973, Rutkowski i Korolczuk 1974) lub przez dodatek karboksymetylocelulozy (Gilberg i Tornell 1976). Próbowano także izolować białko heksametafosforanem sodu, a następnie poddawać je ultrafiltracji — diafiltracji i oczyszczać na kolumnach jonowymiennych (Tzeng i in. 1988). Metody te pozwalały otrzymać produkty o wysokiej zawartości białka, ich mankamentem była jednak równoczesna obecność w produkcji niewielkich ilości substancji antyodżywczych, takich jak glukozynolany, fityniany i związki fenolowe oraz często niepożądany smak (Dąbrowski i Baryłko-Pikielna 1990). Dodatkowym ograniczeniem w stosowaniu izolatów rzepaku na szeroką skalę była także niska rozpuszczalność uzyskanych białek. Problem ten w przypadku rzepaku zaznacza się dość wyraźnie, bowiem podczas tostowania, tłoczenia i późniejszej ekstrakcji oleju część białek śruty ulega denaturacji, co znacznie obniża ich rozpuszczalność. Rozpuszczalność białek w otrzymanych ze śruty izolatach jest zatem również znacznie ograniczona.

Hydroliza izolatów z rzepaku poprawia rozpuszczalność uzyskanych białek. Hydrolizaty posiadają właściwości konserwujące i zdolność obniżania aktywności wody (Vallejo-Cordoba i in. 1986). Ich szerokie zastosowanie związane jest z właściwościami emulgującymi, stabilizacyjnymi i pianotwórczymi. Wykazują również działanie przeciwutleniające (Amarowicz i Shahidi 1997, Jung i in. 2001, Korczak i in. 1998). Funkcjonalne zalety hydrolizatów białkowych związane są także z ich oddziaływaniem na smak i zapach produktów spożywczych, co wynika z obecności w nich kwasu glutaminowego i innych aminokwasów, 5-rybonukleotydów oraz produktów reakcji Maillarda (Ma i Ooraikul 1986 a, b, Pazoła 1970, Weir 1986). Są ponadto doskonałym źródłem łatwo przyswajalnego azotu, aminokwasów, w tym egzogennych, i wartościowych biologicznie peptydów (Flaczyk 1997, Lahl i Braun 1994, Synowiecki i Sikorska-Wiśniewska 1997). W literaturze

pojawiły się doniesienia o enzymatycznej hydrolizie izolatów białkowych z rzepaku. Polepsza ona ich właściwości technologiczne i pozwala je zastosować w produkcji m.in. pieczywa, lodów i produktów mięsnych (Vioque i in. 1999, Vioque i in. 2000). Innym sposobem pozyskiwania hydrolizatów białkowych jest hydroliza kwasowa.

Celem podjętych badań było uzyskanie hydrolizatów kwasowych ze śruty rzepakowej oraz izolatów białkowych otrzymanych ze śruty, a następnie porównanie ich wybranych wyróżników chemicznych.

Material i metody

Do badań wykorzystano ciemnonasienną odmianę rzepaku Kana, pochodzącą z Hodowli Roślin „Strzelce” Oddział Borowo. Nasiona rozdrobniono, a następnie odtłuszczono w aparacie Soxhleta przy użyciu eteru naftowego, uzyskując w ten sposób odtłuszczoną śrutę rzepakową. Izolat otrzymano przez dwukrotną ekstrakcję białka ze śruty 0,25% roztworem NaOH (stosunek 1 : 20) w temperaturze pokojowej na wytrząsarce Elpan 357. Po odwirowaniu (3000 rpm przez 5 min.) zakwaszono supernatant 6 M kwasem solnym do pH 5,0 w celu strącenia białek w punkcie izoelektrycznym (Vioque i in. 2000). Izolat odwirowano, przemywano wodą destylowaną i mrożono. Rozmrożony, mokry izolat i śrutę rzepakową poddano hydrolizie kwasowej ogrzewając je przez 6 godzin z dodatkiem 4,5 M kwasu solnego pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 105°C. Ilość kwasu solnego dobierano zgodnie z praktyką przemysłową na podstawie zawartości azotu ogólnego w materiale wyjściowym (Pazoła i in. 1958, Pazoła 1970). Następnie hydrolizaty zobojętniono przy pomocy bezwodnego węgla sodu do pH 5,5. Wszystkie hydrolizaty filtrowano i odbarwiano 2% dodatkiem węgla „Carbopol” CWO-3 i poddawano tzw. procesowi dojrzewania w temperaturze pokojowej w ciągu dwóch tygodni. W tym czasie nabierały one odpowiednich cech smakowych i zapachowych. Po etapie dojrzewania hydrolizaty filtrowano i suszono rozpyłowo. Proces hydrolizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego surowca.

W śrucie i izolacie oznaczono zawartość azotu ogólnego metodą Kjeldahla (AOAM) w aparacie Kjeltec (Tecator). Przy obliczaniu zawartości białka zastosowano przelicznik 6,25. Zawartość neutralnego błonnika pokarmowego (NDF), kwaśnego błonnika detergentowego (ADF) i celulozy oznaczono metodą Van Soesta (1964, 1967). Do trawienia skrobi wykorzystano termostabilną α -amylazę (Termamyl, 120L) uwzględniając modyfikację Mc Queena i Nicholsona (1979). Badania przeprowadzono wykorzystując aparat Fibertec (Tecator). Oznaczono także suchą masę metodą suszarkową w temperaturze 105°C w naczynkach wagowych z piaskiem i popioł po mineralizacji w temperaturze 600°C przez 7 godzin (Pluszyński i Bagdach 1967). Zawartość węglowodanów obliczono z tzw.

różnicy, odejmując od 100 sumę zawartości białka, tłuszczu, błonnika, wody i popiołu, wyrażone w procentach. Hydrolizaty scharakteryzowano pod względem zawartości azotu ogólnego, azotu α -aminowego, popiołu i suchej masy. Zawartość azotu aminowego oznaczono metodą Spiesa i Chambersa (Spies 1957), która polega na kompleksowaniu wolnych aminokwasów i niskocząsteczkowych peptydów związkami miedzi. Powstałe kompleksy o różnym zabarwieniu przeprowadza się w kompleksy alaniny i mierzy ekstynkcję związków barwnych przy długości fali $\lambda = 620$ nm. Pomiarów dokonano na spektrofotometrze „Spekol 11” firmy Carl Zeiss Jena. Chlorki w hydrolizatach oznaczono metodą Mohra (Pluszyński i Bagdach 1967), ekstrahując sól wodą a następnie miareczkując chlorki mianowanym roztworem azotanu srebra w obecności nasyconego chromianu potasu. Do analizy zawartości polifenoli zastosowano metodę Folina-Ciocalteu (AOAC). Barwę określono poprzez pomiar ekstynkcji roztworów hydrolizatów o zawartości 0,05% azotu ogólnego przy długości fali 420 nm. Obliczono stopień hydrolizy białka. Ocenę organoleptyczną otrzymanych hydrolizatów przeprowadzoną metodą dyskusji panelowej. Zadaniem oceniających było scharakteryzowanie poszczególnych najbardziej wyczuwalnych deskryptorów smakowych. Do oceny próby hydrolizatów rozcieńczono wodą destylowaną w stosunku 1 : 15 (v/v).

Wyniki i ich omówienie

Przeprowadzone badania podstawowe śruty rzepakowej i wyizolowanych z niej substancji wskazują, że ich skład chemiczny był zbliżony jakościowo, różnił się natomiast ilościowo (tab. 1). W izolacie oprócz białka stwierdzono także obecność niewielkich ilości popiołu, wody i tłuszczu. Zawartość białka wynosiła tu prawie 84%, co jest wartością dość niską, bowiem jak podają Rutkowski i Kozłowska (1981) oraz Stasińska (1997), izolat zgodnie z obowiązującą definicją powinien zawierać co najmniej 90% białka. Wydaje się więc, że otrzymaną substancję poprawnie byłoby nazywać preparatem białkowym ze śruty rzepakowej albo izolatem, z zaznaczeniem jednak, że chodzi tu o sposób jej pozyskania.

Obliczona zawartość węglowodanów była w śrucie zdecydowanie wyższa i wynosiła w sumie 52,9% wobec 13,5% w izolacie. Również ilość popiołu w śrucie była większa.

Analiza zawartości polifenoli wykazała, że więcej było ich w izolacie. Wpłynęła na to najprawdopodobniej wysoka zawartość białka. Polifenole, przede wszystkim taniny, tworzą kompleksy z białkami obniżając przez to ich wartość odżywczą. Uważa się, że kompleksy te powstają w wyniku tworzenia mostków wodorowych oraz oddziaływań hydrofobowych, zwłaszcza w warunkach obniżonego pH (Oh i in. 1980). Z kolei alkaliczny bądź obojętny odczyn środowiska

sprzyjają łączeniu się białek z kwasami fenolowymi (Zadernowski 1987). Należy przypuszczać, że oba typy reakcji zaszły podczas otrzymywania hydrolizatów z izolatu śruty rzepakowej: najpierw w czasie ekstrahowania białka ze śruty 0,25% roztworem wodorotlenku sodu, później podczas zakwaszenia supernatantu do pH 5,0.

Tabela 1
Porównanie składu chemicznego odtłuszczonej śruty rzepakowej i otrzymanego z niej izolatu białkowego [% suchej masy] — *The comparison of chemical composition of defatted rapeseed meal and obtained from it protein isolates [in % of dry matter]*

Wyróżnik <i>Index</i>	Rodzaj surowca — <i>Kind of source</i>	
	śruta rzepakowa <i>rapeseed meal</i>	izolat białkowy <i>protein isolate</i>
Białko — <i>Protein</i> [%]	41,8 ± 0,72	83,99 ± 0,26
Węglowodany — <i>Carbohydrates</i> [%]	26,75	13,48
Błonnik — <i>Fibre</i> [%]	26,12 ± 0,01	–
Tłuszcz — <i>Fat</i> [%]	1,08 ± 0,02	0,07 ± 0,01
Popiół — <i>Ash</i> [%]	7,54 ± 0,21	2,45 ± 0,04
Polifenole — <i>Polyphenols</i> [mg/g]	20,12 ± 0,01	19,41 ± 0,02

* Dane przedstawiają wartości średnie z trzech powtórzeń oraz odchylenie standardowe
Data presents mean value from three replicates and standard deviation

Oba rodzaje hydrolizatów różniły się między sobą zawartością azotu ogólnego i aminowego (tab. 2). Były to różnice istotne statystycznie, wynikały one z różnej ilości białka w surowcu wyjściowym. Stopień hydrolizy w obu przypadkach był wysoki i kształtował się na podobnym poziomie, co świadczyłoby o tym, że w danych warunkach hydrolizy rozpad białka jest proporcjonalny do jego ilości początkowej. Ilość soli, popiołu i suchej masy była istotnie wyższa w hydrolizacie śruty. Prawdopodobnie wynika to z wyższej zawartości węglowodanów, które podczas obróbki uległy rozpadowi do związków o charakterze kwaśnym. Spowodowało to konieczność użycia większej ilości węgla sodu do neutralizacji i wpłynęło na podwyższenie wartości omawianych wyróżników w hydrolizacie śruty.

Hydrolizat śruty charakteryzował się ciemniejszą barwą (tab. 2). Należy przypuszczać, że ze względu na wyższą zawartość oligocukrów, głównie sacharozy i stachiozy (Rutkowski, Kozłowska 1979) oraz węglowodanów złożonych, podczas hydrolizy powstało w nim więcej produktów reakcji Maillarda, dających efekt zbrązowienia.

Podczas przeprowadzonej oceny organoleptycznej badanych hydrolizatów oceniający wyróżnili jako dominujące następujące noty smakowe: bulionowy, grzybowy i kostek maggi, przy czym hydrolizat otrzymany z izolatu białkowego śruty rzepakowej wykazał większą neutralność smaku. Nie stwierdzono tak charakterystycznego dla produktów z rzepaku posmaku goryczy, który mógł być spo-

Tabela 2

Zawartość azotu ogólnego, azotu α -aminowego, stopień hydrolizy białka, zawartość soli, popiołu i suchej masy oraz barwa hydrolizatów białkowych otrzymanych ze śruty rzepakowej oraz z izolatu białkowego — *The content of total nitrogen, amino nitrogen, degree of hydrolysis, the content of sodium chloride, ash and dry matter and the color of protein hydrolysates obtained from deffated rapeseed meal and protein isolate*

Wyróżnik <i>Index</i>	Rodzaj hydrolizatu — <i>Kind of hydrolysate</i>	
	hydrolizat śruty rzepakowej <i>hydrolysate of rapeseed meal</i>	hydrolizat izolatu białkowego <i>hydrolysate of protein isolate</i>
Azot ogólny — <i>Total nitrogen</i> [g/100 g]	0,83 ± 0,01 a*	1,51 ± 0,01 b
Azot α -aminowy — <i>Amino nitrogen</i> [g/100 g]	0,62 ± 0 a	1,11 ± 0,02 b
Stopień hydrolizy — <i>Degree of hydrolysis</i> [%]	74,9	73,5
NaCl — <i>Salt</i> [%]	24,5 ± 0,13 a	22,3 ± 0,33 b
Popiół — <i>Ash</i> [%]	20,7 ± 0,08 a	18,5 ± 0,64 b
Sucha masa — <i>Dry matter</i> [%]	27,2 ± 0,07 a	28,7 ± 0,28 b
Barwa — <i>Color</i> [E ₄₂₀]	0,601 ± 0,01	0,162 ± 0,01

* Dane przedstawiają wartości średnie z sześciu powtórzeń oraz odchylenie standardowe, wartości oznakowane innymi literami w tym samym wierszu różnią się statystycznie istotnie przy $p < 0,05$
Data present mean value from six replicates and standard deviation, values marked with different letter in the same line are significantly different at $p < 0.05$

wodowany m.in. obecnością polifenoli. Efekt taki powodują zarówno kwasy fenolowe, jak i sinapina oraz jej pochodne; taniny dodatkowo dają jeszcze tzw. efekt ściągający (Naczki i in. 1998). Za gorzki smak hydrolizatów odpowiadać mogą również gorzkie peptydy. Fakt, że uzyskane hydrolizaty charakteryzowały się pożądanym smakiem należy tłumaczyć uwzględniając reakcje obu tych grup związków, tj. i gorzkich peptydów, i polifenoli. Przypuszczać należy, że brak goryczy związany jest z jednej strony z wysokim stopniem hydrolizy białka. Jak podaje Adler-Nissen (1985) produkty słabo zhydrolizowane zawierają białka globularne o nienaruszonej strukturze, których łańcuchy hydrofobowe schowane są wewnątrz cząsteczki i tym samym nie wchodzi w reakcje z kubkami smakowymi, a ponadto stężenie peptydów jest w nich niewielkie. Wzrost stopnia hydrolizy powoduje powstanie peptydów i wyeksponowanie hydrofobowych aminokwasów, przez co daje odczucie goryczy. Dotyczy to jednak hydrolizatów enzymatycznych. Wysoki stopień zhydrolizowania białka, jaki osiągnięto w przypadku hydrolizatów otrzymanych w pracy sprawił, że gorzkie peptydy uległy częściowej degradacji do wolnych aminokwasów, czego rezultatem było zmniejszenie stopnia goryczy. Ponadto wydaje się, że związki fenolowe, odpowiedzialne za wrażenie goryczy i efekt ściągający, zostały podczas procesu hydrolizy kwasowej „uniczynnione” — stworzyły kompleksy z peptydami i aminokwasami, co również wpłynęło na polepszenie smaku otrzymanych produktów.

Wnioski

Izolaty białkowe rzepaku są dobrym surowcem do produkcji hydrolizatów:

- hydrolizaty białkowe z izolatów rzepaku podwójnie ulepszonych charakteryzują się wysoką zawartością białka i stopniem hydrolizy,
- posiadają przyjemny, pozbawiony goryczy smak.

Conclusions

Rapeseed protein isolates are a good source for production of hydrolysates:

- protein hydrolysates obtained from double low rapeseed isolates are characterized by high degree of hydrolysis and high content of protein,
- have a good taste without bitterness and astringency.

Literatura

- Adler-Nissen J. 1985. Enzymic hydrolysis of food proteins. Elsevier Applied Science Publishers, London and New York.
- Amarowicz R., Shahidi F. 1997. Antioxidant activity of peptide fractions of capelin protein hydrolysates. *Food Chem.* 58 (4): 355-359.
- Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 15.049-15.055, 10. Ausgabe.
- Dąbrowski K., Baryłko-Pikielna N. 1990. Wpływ warunków otrzymywania izolatów białkowych z rzepaku na ich cechy sensoryczne. III Krajowe Sympozjum Chemii i Technologii Tłuszczów, Gdańsk.
- Flaczyk E. 1997. Zalety technologiczne i żywieniowe hydrolizatów białkowych (Część II). *Przem. Spoż.* 4: 43-45.
- Gilberg L., Tornell B. 1976. Preparation of rapeseed protein isolates. Precipitation of rapessed protein in the presence of polyacids. *J. Food Sci.* 41: 1070-1075.
- Girault A. 1973. The study of some properties of rapeseed protein with a view to protein concentrate production. *J. Sci. Food Agric.* 24: 509-518.
- Jung W.K., Nam K.S., Shahidi F., Kim S.K. 2001. Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg Yolk. *JAOCS* 78 (6): 651-656.
- Korczak J., Janitz W., Heś M. 1998. Hydrolizat śruty rzepakowej jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XIX* (1): 269-278.
- Kozłowska H., Borowska J. 1985. Izolat białka otrzymany z mieszaniny mąki rzepakowej i bobikowej. II Krajowe Sympozjum Chemii i Technologii Tłuszczów, Gdańsk.
- Kozłowska H., Sosulski F. 1972. Glucosinolanes free flour and isolates from rapeseed and related species. *AOCS Annual Meeting*. Ottawa, Canada. Za: Rutkowski A., Kozłowska H. 1981. Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. WNT, Warszawa.
- Lahl W.J., Braun S.D. 1994. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Tech.* 48 (10): 68-71.
- Ma A.Y.M., Ooraikul B. 1986a. Optimization of enzymatic hydrolysis of canola meal with response surface methodology. *J. Food Proc. Preserv.* 10: 99-113.

- Ma A.Y.M., Oraikul B. 1986b. A sauce product from enzyme-hydrolyzed canola meal. *J. Food Proc. Preserv.* 10: 163-176.
- Mc Queen R.E., Nicholson J.W.G. 1979. Modification of the neutral-detergent fibre procedure for cereals and vegetables by using amylase. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 62: 676-680.
- Naczka M., Amarowicz R., Sullivan A., Shahidi F. 1998. Current research developments on polyphenolics of rapeseed/canola: a review. *Food Chem.* 62 (4): 489-502.
- Owen D.F., Chichester C.O. 1971. A process for producing a non-toxic rapeseed protein isolate and an acceptable feed byproduct. *Cereal Chem.* 48: 91-95.
- Oh H., Hoff J., Armstrong G., Haff J. 1980. Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *J. Agric. Food Chem.* 28: 394-398.
- Pazoła Z., Ślósarek D., Świerczyński A., Świtek H. 1958. Optymalne warunki hydrolizy ciśnieniowej surowców białkowych za pomocą kwasu solnego. II. Hydroliza poekstrakcyjnych śrutów sojowych, arachidowych i rzepakowych. *Prace Badawcze Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego* 1: 59-72.
- Pazoła W. 1970. *Technologia koncentratów spożywczych.* WNT, Warszawa.
- Pluszyński E., Bagdach J. 1967. *Metody badania żywności wg norm.* WPLiS, Warszawa.
- Rutkowski A. 1972. Koncentraty i izolaty białek nasion roślin oleistych. *Przem. Spoż.* 26: 152-158.
- Rutkowski A., Korolczuk J. 1974. Some echnological aspects of the isolation of rapeseed protein. *Proc. of 4 International Raps Kongress, Giessen, 637-649.* Za: Rutkowski A., Kozłowska H. 1981. *Preparaty żywnościowe z białka roślinnego.* WNT, Warszawa.
- Rutkowski A., Kozłowska H. 1979. Chemical constituents and protein food processing of rapeseed. *JAACS* 56 (3): 475-477.
- Rutkowski A., Kozłowska H. 1981. *Preparaty żywnościowe z białka roślinnego.* WNT, Warszawa.
- Spies J.R. 1957. *Methods in enzymology.* Vol. III. Academic Press, New York.
- Stasińska B. 1997. *Białka niekonwencjonalne i modyfikowane.* W: *Białka w żywności i żywieniu* (red. J. Gawęcki). Wyd. AR, Poznań.
- Synowiecki J., Sikorska-Wiśniewska G. 1997. Funkcjonalne właściwości i żywieniowe zastosowanie hydrolizatów białkowych. *Żywn. Technol. Jak.* 3 (12): 20-27.
- Tzeng Y.M., Diosady L.L., Rubin L.J. 1988. Preparation of rapeseed protein isolate by sodium hexametaphosphate extraction, ultrafiltration, diafiltration, and ion-exchange. *J. Food Sci.* 53 (5): 1537-1541.
- Vallejo-Cordoba B., Nakai S., Powrie W.D. 1986. Protein hydrolysates for reducing water activity in meat products. *J. Food Sci.* 51: 1156-1161.
- Van Soest P.J. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Preparation a fiber residues of low nitrogen content. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 46: 5-8.
- Van Soest P.J. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. Determination of plant cell wall constituents. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 50: 50-55.
- Vioque J., Sanchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Bautista J., Millan F. 1999. Production and characterization of an extensive rapeseed protein hydrolysate. *JAACS* 76 (7): 819-823.
- Vioque J., Sanchez-Vioque R., Clemente A., Pedroche J., Millan F. 2000. Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties. *JAACS* 77 (4): 447-450.
- Weir G.S.D. 1986. Protein hydrolysates as flavourings. In: Hudson B.J.E. (ed.) *Developments in food proteins.* Elsevier, London 1986.
- Zadernowski R. 1987. Studies on phenolic compounds of rapeseed flours. *Acta Acad. Agric. Technol. Olst.* 21F: 1-55.