

Anna Jędrusek-Golińska, Józef Korczak, Wojciech Białas\*, Marzanna Hęś,  
Anna Gramza

Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu,  
Katedra Technologii Żywności Człowieka, \* Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

## Ocena właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej w wybranych testach

### The evaluation of antioxidant activity of protein hydrolysates obtained from rapeseed meal in selected tests

Słowa kluczowe: śruta rzepakowa, hydroliza kwasowa, hydrolizaty białkowe, właściwości przeciwutleniające, Rancimat, Oxidograph

Celem pracy było porównanie przy użyciu wybranych testów laboratoryjnych właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białkowych ze śruty rzepakowej. Hydrolizaty śruty rzepakowej otrzymano w wyniku zastosowania kwaśnej hydrolizy z użyciem kwasu solnego. Warunki hydrolizy były zmienne i obejmowały różne stężenia kwasu solnego (4,5 i 6 M) oraz czas procesu (6 i 12 h). Temperatura podczas hydrolizy (105°C) oraz stopień neutralizacji (pH = 5,5) uzyskanych hydrolizatów były stałe.

Aktywność przeciwutleniającą uzyskanych hydrolizatów oszacowano z wykorzystaniem testów przyspieszonych (Oxidograph, Rancimat) oraz w oparciu o metodę spektrofotometryczną. Badania właściwości przeciwutleniających przeprowadzono w oleju rzepakowym i smalcu wieprzowym oraz w emulsji kwasu linolowego.

Uzyskane wyniki wskazują, że hydrolizaty białkowe śruty rzepakowej wykazały dobre właściwości przeciwutleniające, zależne od czasu procesu i stężenia kwasu solnego podczas hydrolizy. Najwyższe współczynniki wartości ochronnych, na poziomie istotnie wyższym niż dla BHT, uzyskano w testach Rancimat i Oxidograph dla utlenianych prób oleju rzepakowego. Wydłużenie czasu hydrolizy oraz zwiększenie stężenia HCl przyczyniły się do polepszenia właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej.

Wydaje się, że można by rozważyć stosowanie tych hydrolizatów w produkcji żywności jako przeciwutleniaczy naturalnych, ograniczających procesy utleniania tłuszczów.

Key words: rapeseed meal, acid hydrolysis, protein hydrolysates, antioxidant activity, Rancimat, Oxidograph

The aim of the study was the comparison of antioxidant activities of protein hydrolysates obtained from defatted rapeseed meal and evaluated with selected methods. The hydrolysates were obtained from defatted rapeseed meal through hydrolysis with hydrochloric acid. The conditions of hydrolysis were variable and included different concentrations of hydrochloric acid (4.5 and 6 M) and time of the process (6 and 12 h). The temperature of the hydrolysis (105°C) and the degree of neutralization (pH = 5.5) were constant.

The antioxidant activity of obtained hydrolysates was evaluated by using accelerated methods (Oxidograph, Rancimat) and spectrophotometric method. The examination was carried out in rapeseed oil, lard and emulsion of linoleic acid.

The obtained results indicate that the protein hydrolysates from defatted rapeseed meal showed good antioxidant activity in applied methods. This activity was dependent on the time of hydrolysis and the concentration of used hydrochloric acid. The highest protection factors, higher than observed for BHT, were obtained for rapeseed oil in Rancimat and Oxidograph tests. The extended hydrolysis time and the increase of HCl concentration caused the improvement of hydrolysates antioxidant activity. The use of the hydrolysates as natural antioxidants limited fat oxidation what could be taken into account in food production.

## Wstęp

---

Znaczenie hydrolizatów białkowych w żywności i żywieniu wynika z ich specyficznych właściwości. Przyjmuje się, że hydrolizaty mogą spełniać określone funkcje żywieniowe i technologiczne. Ze względu na swój skład chemiczny mogą być wykorzystywane jako źródło aminokwasów (także egzogennych) i peptydów o wysokiej wartości biologicznej. Związki te są stosunkowo łatwo wchłaniane przez organizm człowieka i przez to sprzyjają utrzymaniu równowagi azotowej. Z tych powodów hydrolizaty znajdują w żywieniu coraz więcej zastosowań (Frojaker 1994, Synowiecki i Sikorska-Wiśniewska 1997).

Proces hydrolizy, dzięki zastąpieniu alergicznych polipeptydów przez ich zdegradowane formy, ma największe znaczenie praktyczne w zmniejszaniu właściwości uczulających różnych białek. Hydrolizaty kazeiny i białek serwatkowych, wprowadzane do mlecznych mieszanek dla niemowląt, pozwalają modyfikować ich frakcje azotu niebiałkowego. Dzięki temu minimalizuje się różnice w ilościowym i jakościowym składzie niebiałkowej frakcji azotowej mleka krowiego w stosunku do mleka kobiecego (Dzwolak i Ziajka 1993, Lahl i Braun 1994, Pordąb i Majchrzak 1998). Hydrolizaty białkowe są przede wszystkim mieszaniną aminokwasów i peptydów potrzebnych organizmowi do budowy sobie właściwego białka. Ilości hydrolizatów, jakie wprowadza się do pożywienia, są stosunkowo niewielkie, niemniej jednak mają znaczenie odżywcze, jeżeli aminokwasy znajdują się w odpowiedniej proporcji zbliżonej do składu białka pełnowartościowego i mają pewien nadmiar aminokwasów egzogennych.

Hydroliza białek prowadzi do stopniowej zmiany ich właściwości, wywołanej zniszczeniem pierwotnej konformacji i fragmentacją cząstek. Hydrolizaty różnią się od macierzystych białek lepkością roztworów, rozpuszczalnością, zdolnością emulgowania, stabilizowania emulsji, pienienia się i wskaźnikiem zdolności żelowania, a także barwą, smakiem, zapachem i właściwościami przeciwutleniającymi. To sprawia, że hydrolizaty białkowe są wykorzystywane również jako dodatki funkcjonalne (Dzwolak i Ziajka 1993, Synowiecki i Sikorska-Wiśniewska 1997). Funkcjonalność definiuje się przy tym dość szeroko, jako takie właściwości

żywności lub jej składników, poza wartościami żywieniowymi, które zwiększają ich wykorzystanie (Pour-El 1981).

Właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białkowych związane są z występowaniem w nich określonych substancji chemicznych, tj. aminokwasów i peptydów, produktów reakcji Maillarda, a także związków fenolowych odpornych na hydrolizę oraz produktów degradacji ligniny. Sumaryczny efekt przeciwutleniający takiej mieszaniny zależy od składu ilościowego i jakościowego związków powstałych w wyniku fragmentacji surowca białkowego, ilości i rodzaju polifenoli oraz wtórnych reakcji zachodzących podczas hydrolizy w środowisku kwaśnym (Amarowicz i Shahidi 1997, Moon i in. 2002).

## Material i metody

---

Do badań wykorzystano nasiona ciemnonasiennej odmiany rzepaku ozimego Kana (2001) pochodzące 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. Śrutę poddano hydrolizie kwasowej ogrzewając ją z dodatkiem kwasu solnego pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 105°C. Zastosowano cztery warianty hydrolizy, obejmujące zmienny czas procesu, tj. 6 i 12 godzin, oraz zróżnicowane stężenie katalizatora — 4,5 i 6 M roztwory kwasu solnego. Ilość kwasu solnego dobierano zgodnie z praktyką przemysłową na podstawie zawartości azotu ogólnego w surowcu wyjściowym (Pazoła i in. 1958, Pazoła 1970). Następnie hydrolizaty zobojętniano przy pomocy bezwodnego węgla sodu do pH 5,5. Kolejnym etapem było filtrowanie, a następnie odbarwianie hydrolizatów 2% dodatkiem węgla „Carbopol” CWO-3. Hydrolizaty poddawano następnie 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 pracy wykorzystano substraty tłuszczowe, takie jak smalec wieprzowy bez dodatków zakupiony bezpośrednio po wytopie (Rzeźnictwo-Wędliniarstwo dr Maryniak) oraz olej rzepakowy zakupiony w handlu detalicznym (Kujawskie Zakłady Przemysłu Tłuszczowego w Kruszwicy). Przygotowano także tłuszcz zemulgowany — kwas linolowy o czystości ponad 99% zakupiony w Nu-Chek Prep. (Elysian, USA). 10mM emulsję kwasu linolowego o pH 6,5 przygotowano z wykorzystaniem Tweenu 20 (Sigma) wg metodyki opisanej przez Lingnerta i in. (1979).

Oceny aktywności przeciwutleniającej hydrolizatów białkowych ze śruty rzepakowej dokonano przy pomocy testów przeprowadzonych w aparatach Rancimat

i Oxidograph oraz w emulsji kwasu linolowego (metoda spektrofotometryczna). W aparacie Rancimat (Methrom, Szwajcaria) wykorzystano metodę konduktometrycznego oznaczania lotnych produktów, głównie kwasów krótkołańcuchowych pochodzących z degradacji wodoronadtlenków (Jebe i in. 1993, Płatek 1995). W naczynku reakcyjnym umieszczono próbkę tłuszczu, która następnie była utleniana strumieniem powietrza o szybkości przepływu 20 l/s w temperaturze 110°C. Koniec okresu indukcyjnego wyznaczał gwałtowny wzrost przewodnictwa wody spowodowany dysocjacją lotnych kwasów karboksylowych (Läubli i Bruttel 1986). Na podstawie uzyskanych długości okresów indukcyjnych obliczono współczynnik  $W_o$  określający efektywność przeciwutleniającą badanych dodatków hydrolizatów białkowych:

$W_o = \text{okres indukcyjny próby badanej} / \text{okres indukcyjny próby kontrolnej}$ .

Przy pomocy aparatu Oxidograph (Mikrolab Aarhus, Dania) dokonywano bezpośredniego pomiaru ilości tlenu pochłoniętego przez próbkę tłuszczu inkubowaną w temperaturze 110°C. Rezultatem utlenienia tłuszczu był spadek ciśnienia w naczynku reakcyjnym (Larsen 1989). Zmiana ta była rejestrowana przez czujniki ciśnieniowe i zapisywana na wykresie. Za miarę stabilności prób przyjęto koniec okresu indukcyjnego wyznaczony graficznie z wykresu jako punkt przecięcia się stycznej kreślonej do stromo wznoszącego się odcinka krzywej z osią czasu. Efektywność przeciwutleniającą badanych hydrolizatów wyznaczono podobnie jak w teście Rancimat (Hęś i in. 2001, Lauridsen i Schultz 1993).

Kolejna metoda polegała na spektrofotometrycznym ( $\lambda = 234 \text{ nm}$ ) oznaczeniu przyrostu zawartości dienów sprzężonych w emulsji kwasu linolowego o stężeniu 10 mM i pH 7,2 (Lingnert i in. 1979) po 19 h inkubacji bez dostępu światła w temperaturze 37°C. Efektywność przeciwutleniającą ( $W_o$ ) wyrażono stosunkiem różnicy przyrostu absorpcji próby kontrolnej i próby badanej do przyrostu absorpcji próby kontrolnej:

$$W_o = (\Delta \text{Abs}_{234K} - \Delta \text{Abs}_{234}) / \Delta \text{Abs}_{234K}$$

## Wyniki

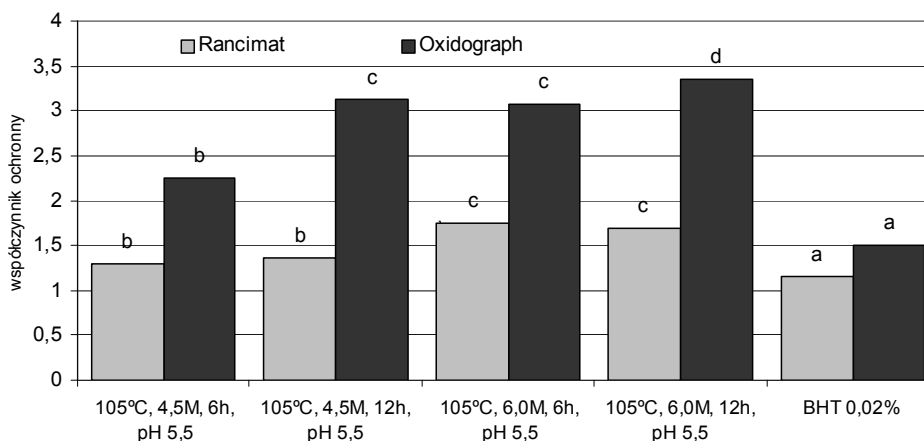
---

### Stabilność oleju rzepakowego z dodatkiem hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej w warunkach testów Rancimat i Oxidograph

Metody te różnią się od normalnych testów oceny stabilności tłuszczów przede wszystkim skróceniem okresu indukcyjnego. Przyspieszenie utleniania uzyskuje się przez podwyższenie temperatury oraz zwiększenie intensywności natleniania (Wan 1995, Płatek 1995). Przyjmuje się, że w takich, przyspieszających utlenianie warunkach powstawanie hydronadtlenków i ich rozpad do produktów lotnych zachodzą niemal jednocześnie (Läubli i Bruttel 1986).

Stosowane są dwa sposoby obliczania ilości hydrolizatu dodawanego do substratu tłuszczowego. Część badaczy wyraża go w procentach azotu ogólnego (Flaczyk i in. 2003), inni — jako procentową zawartość całej masy hydrolizatu (Korczak i in. 1998a, Löliger i in. 1996). W hydrolizatach białkowych śruty rzepakowej czynnikiem przeciwutleniającym są nie tylko aminokwasy i peptydy, ale także polifenole i produkty reakcji Maillarda. W tym wypadku dogodniejsze wydawało się zatem to drugie podejście. Tym niemniej, aby szacunkowo porównać wartości współczynników ochronnych z danymi literaturowymi obliczono, że 2% dodatek hydrolizatu odpowiada ilościowo 0,10–0,12% białka badanych hydrolizatów.

Wyniki oceny stabilności oleju rzepakowego z dodatkiem hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej w testach Rancimat i Oxidograph przedstawiono na wykresie 1. W przeprowadzonych badaniach najwyższe współczynniki ochronne w teście Rancimat wykazały hydrolizaty otrzymane w wyniku działania na śrutę 6M kwasem solnym w 105°C przez 6 i 12 godzin. Wszystkie współczynniki ochronne, obliczone dla hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej czarnonasiennej w warunkach testu Rancimat, były istotnie wyższe od otrzymanych dla 0,02% dodatku BHT.



Wykres 1. Współczynniki ochronne w oleju rzepakowym — *Protection factors in rapeseed oil*

Najwyższą wartość współczynnika ochronnego w teście Oxidograph zanotowano dla hydrolizatu białkowego czarnonasiennej śruty rzepakowej, który otrzymano ogrzewając śrutę z 6 M kwasem solnym w temperaturze 105°C przez 12 godzin. W stosunku do próby kontrolnej zwiększał on trwałość oleju rzepakowego prawie 3,5 razy. Wszystkie badane hydrolizaty wydłużały okres indukcyjny ponad dwukrotnie. Najmniejszy współczynnik ochronny zanotowano dla 0,02% dodatku BHT.

Uzyskane w pracy wartości współczynników ochronnych są zbliżone do wyników opublikowanych przez Korczaka i współpracowników (1998a). W swoich badaniach, w warunkach testu Rancimat, przy zastosowaniu 2,5 i 5% dodatków hydrolizatu śruty rzepakowej uzyskali oni odpowiednio półtora- i dwukrotne

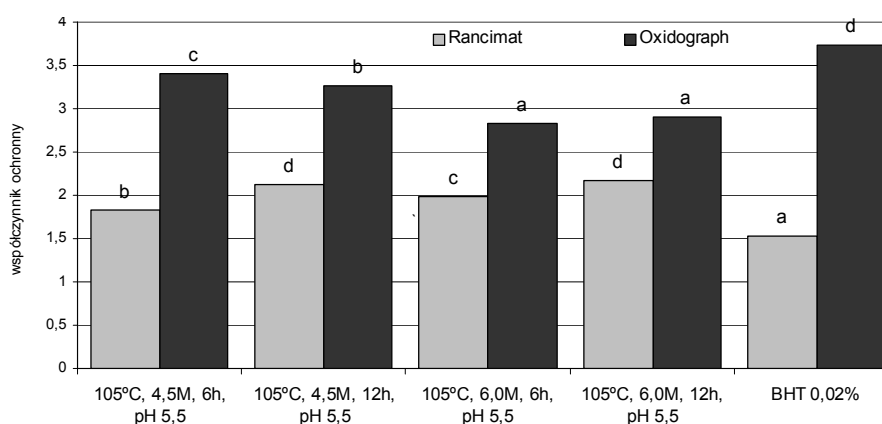
zwiększenie trwałości oleju rzepakowego. W teście Oxidograph uzyskany przez nich współczynnik ochronny oleju rzepakowego z dodatkiem 2,5% hydrolizatu wynosił 3,18.

Z uwagi na zróżnicowany skład hydrolizatów (Jędrusek-Golińska i in. 2005) śledzono zależność aktywności przeciwutleniającej uzyskanych preparatów białkowych od zawartości w nich poszczególnych składników. Zaobserwowano związek między wielkością współczynników ochronnych w obu testach przyspieszonych a zawartością azotu ogólnego w hydrolizatach. W literaturze szeroko opisany jest wpływ aminokwasów i peptydów na kinetykę utleniania tłuszczów. Przeciwyutleniające właściwości aminokwasów wykazali m.in. Ahmad i in. (1983) oraz Farag i in. (1980). Należy przypuszczać, że na ostateczny efekt w przeciwdziałaniu oksydacji lipidów wpływ miało także współdziałanie aminokwasów między sobą oraz z przeciwutleniaczami fenolowymi (Hayes i in. 1977, Pratt i in. 1981). O tym, że aktywność przeciwutleniająca mieszanin aminokwasów jest zróżnicowana i zależy od ich ilościowego i jakościowego składu informowali Seher i Löschler (1986).

Wartości współczynników ochronnych uzyskane w teście Rancimat były niższe od uzyskanych w aparacie Oxidograph. Wynikało to najprawdopodobniej z różnych warunków, w jakich utleniano próby oleju.

### Stabilność smalcu wieprzowego z dodatkiem hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej w warunkach testów Rancimat i Oxidograph

Wartości współczynników ochronnych smalcu przedstawiono na wykresie 2.



Wykres 2. Współczynniki ochronne w smalcu wieprzowym — *Protection factors in lard*

W teście Rancimat największe współczynniki ochronne w smalcu obliczono dla hydrolizatów otrzymanych w wyniku działania na śrutę 4,5 i 6,0 M kwasem solnym przez 12 godzin w temperaturze 105°C. Dodatki tych hydrolizatów spowodowały ponad dwukrotne zwiększenie trwałości tego tłuszczu w stosunku do próby

kontrolnej (bez przeciwutleniacza). Najmniejszą wartość współczynnika ochronnego wykazano dla 0,02% dodatku przeciwutleniacza syntetycznego — BHT.

Powyższe wyniki odbiegają od danych opublikowanych przez Korczaka i współpracowników (1998a) dla hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej. Przy dodatku hydrolizatu na poziomie 1, 2,5 oraz 5% otrzymali oni odpowiednio 9-, 16- i 26-krotny wzrost trwałości smalcu. W badaniach prowadzonych przez Flaczyk i współpracowników (2003) hydrolizaty białkowe skwarek i pierza, dodane do tłuszczu w ilości 0,1% azotu ogólnego, dały mniejszy efekt ochronny (1,18–1,42). Zwiększenie dodatku hydrolizatów do 0,5% azotu ogólnego w stosunku do masy tłuszczu nie spowodowało takiej poprawy stabilności smalcu, jaką obserwowano dla badanych hydrolizatów śruty rzepakowej.

Wyniki dotyczące stabilności smalcu wieprzowego z 2% dodatkiem hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej w aparacie Oxidograph wykazały, że najwyższą aktywność miały preparaty hydrolizowane przez 6 i 12 godzin 4,5 M kwasem solnym. Wydłużyły one okres indukcyjny smalcu wieprzowego prawie 3,5 razy w stosunku do próby kontrolnej. Pozostałe hydrolizaty wykazały także bardzo dobre właściwości stabilizujące, wyrażone wartościami współczynników 2,83–2,91. Bardzo efektywny okazał się również 0,02% dodatek BHT, który w tym teście wykazał większą zdolność do przedłużania trwałości smalcu niż hydrolizaty.

Przedstawione wyniki korespondują z wartościami współczynników ochronnych, które dla hydrolizatów śruty rzepakowej w warunkach testu Oxidograph otrzymali Korczak i współpracownicy (1998a): przy zastosowaniu hydrolizatów o stężeniu 2,5 i 5% wynosiły one odpowiednio 2,37 i 3,49. Hydrolizaty białkowe otrzymane ze skwarek i pierza cechowały się zdecydowanie niższą aktywnością, kształtującą się przy 0,1% dodatku azotu ogólnego na poziomie 1,21–1,32 (Flaczyk i in. 2003). Pięciokrotne zwiększenie dawki hydrolizatu spowodowało wzrost współczynnika ochronnego do 1,53–1,85, co także dawało efekt gorszy niż uzyskany dla badanych hydrolizatów śruty rzepakowej.

Wartości współczynników ochronnych stabilności oksydatywnej smalcu wieprzowego w obu rodzajach testów były wyższe niż uzyskane dla oleju rzepakowego. Wynika to z charakterystycznej dla tłuszczów zwierzęcych wyższej zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych, w których przeciwutleniacze wykazują zazwyczaj wyższą aktywność (Korczak 1998, Korczak i in. 1990). Z drugiej jednak strony należy przypuszczać, że różnica ta nie była bardzo duża w związku z synergistycznym współdziałaniem zawartych w hydrolizatach aminokwasów i peptydów z tokoferolami, będącymi endogennymi przeciwutleniaczami olejów. Współdziałanie aminokwasów i peptydów z tokoferolami wykazywali m.in. Janicki i in. (1968), a hydrolizatu sojowego z  $\alpha$ - tokoferolem w smalcu Korczak i in. (1996, 1998b).

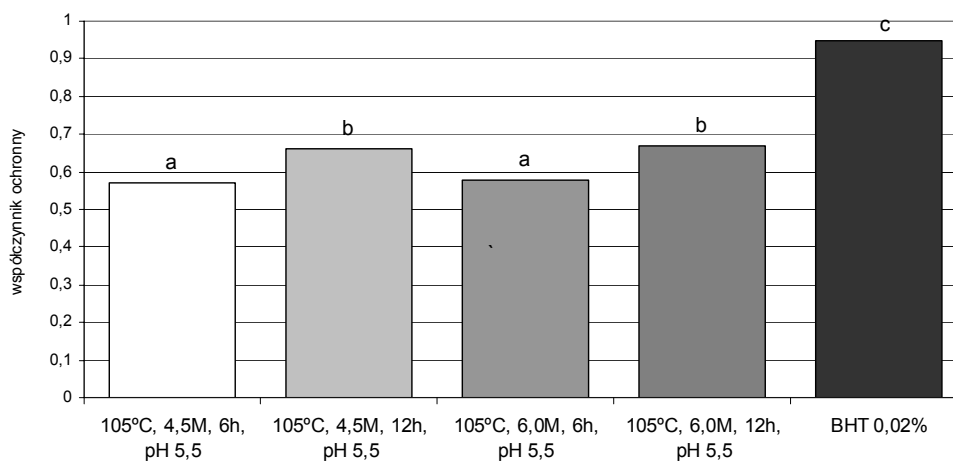
Dzięki zastosowaniu hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej osiągnięto dobrą poprawę stabilności oleju rzepakowego i smalcu. Warto zaznaczyć jednak,

że reakcje tłuszczów zachodzące w warunkach testów przyspieszonych, a więc w podwyższonej temperaturze i zwiększonym dostępie tlenu mogą dawać odmienne wyniki niż uzyskane w testach normalnych. Także aktywność przeciwutleniaczy może być w nich mniejsza niż w testach normalnych, prowadzonych w niższych temperaturach (Ragnarsson i Labuza 1977).

### Metoda spektrofotometryczna

To prosta i szybka metoda monitorowania zmian oksydacyjnych w tłuszczach. Mierzy się w niej tempo tworzenia hydronadtlenków z wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Przyrost absorpcji związany jest z powstawaniem skoniugowanych wiązań kwasu linolowego (Gordon 2001, Lingnert i in. 1979).

Hydrolizaty białkowe śruty rzepakowej wykazały w tej metodzie dobre właściwości przeciwutleniające (wykres 3). Wartości współczynników ochronnych różniły się między sobą. Do najbardziej efektywnych w układzie emulsyjnym należały preparaty śruty poddane działaniu 4,5 i 6 M kwasu solnego przez 12 godzin. Wszystkie hydrolizaty wykazały aktywność niższą niż BHT.



Wykres 3. Współczynniki ochronne w emulsji kwasu linolowego — *Protection factors in linoleic acid emulsion*

Porównując hydrolizaty śruty rzepakowej z innymi przeciwutleniaczami naturalnymi można stwierdzić, że w układzie emulsyjnym posiadają one dobre właściwości przeciwutleniające.

Stwierdzono, że dodatkowi hydrolizatu mąki sojowej na poziomie 0,1% azotu ogólnego odpowiadał współczynnik ochronny 0,19 (Korczak 1998). Zwiększenie dodatku do 0,5% azotu ogólnego wywołało podniesienie się współczynnika ochronnego do 0,91. Hydrolizat kazeiny w ilości 0,5% azotu ogólnego dawał nieco gorszy efekt przeciwutleniający (0,77). Z kolei hydrolizaty skwarek i pierza przy ich



dotadku do emulsji na poziomie 0,1% działały z aktywnością odpowiednio 0,13 i 0,32 (Flaczyk i in. 2003).

Śledząc związek aktywności przeciwutleniającej uzyskanych preparatów białkowych z zawartością w nich poszczególnych składników (Jędrusek-Golińska i in. 2005) zaobserwowano odwrotną zależność między wielkością współczynników ochronnych a barwą hydrolizatów, która jest miernikiem stopnia zaawansowania reakcji Maillarda.

Jak podają Lingnert i Eriksson (1980a, b), optymalne warunki do tworzenia produktów reakcji Maillarda, wykazujących działanie przeciwutleniające w emulsji kwasu linolowego, istnieją w środowisku o pH obojętnym lub lekko zasadowym. Być może zatem mocno kwaśny odczyn środowiska podczas przedstawianej w pracy hydrolizy przyczynił się do powstania produktów, które nie wykazywały ochronnego efektu w stosunku do kwasu linolowego w układzie zemulgowanym lub miały wręcz działanie prooksydatywne. Prooksydatywne właściwości produktów reakcji Maillarda uzyskanych z cysteiny i glukozy w pH 5,0 obserwował m.in. Farag (1980).

## Wnioski

---

1. Hydrolizaty białkowe śruty rzepakowej wykazały dobre właściwości przeciwutleniające, zależne od czasu procesu i stężenia kwasu solnego podczas hydrolizy.
2. Najwyższe współczynniki wartości ochronnych, na poziomie istotnie wyższym niż dla BHT, uzyskano w testach Rancimat i Oxidograph dla utlenianych prób oleju rzepakowego.
3. Wydłużenie czasu hydrolizy oraz zwiększenie stężenia HCl przyczyniły się do polepszenia właściwości przeciwutleniających hydrolizatów białkowych śruty rzepakowej.

## Literatura

---

- Ahmad M.M., Al-Hakim S., Shenata A.Y. 1983. The antioxidant activity of amino acids in two vegetable oils. *JAACS*, 60 (4): 837-840.
- Amarowicz R., Shahidi F. 1997. Antioxidant activity of peptide fractions of capelin protein hydrolysates. *Food Chem.*, 58: 355-359.
- Dzwolak W., Ziajka S. 1993. Kierunki wykorzystania hydrolizatów białkowych. *Przem. Spoż.*, 11: 298-300.
- Farag R.S., Osman S.A., Hallaba S.A.S., Nasr A.A. 1980. Linoleic acid oxidation catalysed by various amino acids and cupric ions in aqueous media. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 10: 390-393.

- Flaczyk E., Amarowicz R., Korczak J. 2003. Antioxidant activity of protein hydrolysates from by-products of the food industry. *J. Food Lipids*, 10: 129-140.
- Frojaker S. 1994. Use of hydrolysates for protein supplementation. *Food Technol.*, 10: 86-88.
- Gordon M. 2001. Measuring antioxidant activity. W: *Antioxidants in food*. Eds. J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon. CRC Press, Boca Raton, 71-86.
- Hayes R.S., Bookwalter G.N., Bagley E.B. 1977. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives – a review. *J. Food Sci.*, 42: 1527-1532.
- Hęś M., Korczak J., Nogala-Kałużka M., Jędrusek-Golińska A., Gramza A. 2001. Przydatność przyspieszonych metod badania trwałości stabilizowanego oleju rzepakowego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXII (2): 517-526.
- Jebe T., Matlock G., Sleeter R. 1993. Collaborative study of the oil stability index analysis. *JAOCS*, 70: 1055-1061.
- Jędrusek-Golińska A., Korczak J., Białas W., Hęś M., Gramza A. 2005. Właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białkowych śrutu rzepakowej otrzymanych w różnych warunkach hydrolizy. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXVI (1): 221-234.
- Korczak J., Pazoła Z., Gogolewski M. 1990. Właściwości przeciwutleniające przypraw ziółowych z rodziny wargowych (*Labiatae*). Część I. Ocena aktywności przeciwutleniającej w układach modelowych. *Roczniki AR w Poznaniu*, 218: 61-74.
- Korczak J., Janitz W., Pokorny J., Nogala-Kałużka M. 1996. Współdziałanie przeciwutleniaczy naturalnych w stabilizacji tłuszczów jadalnych. *Materiały konferencyjne XIX Sesji Naukowej Komitetu Technologii i Chemii Żywności PAN, Szczecin*, 418-421.
- Korczak J. 1998. Czynniki warunkujące właściwości przeciwutleniające hydrolizatów białkowych soi i kazeiny. *Roczniki AR, Rozprawy Naukowe, Poznań*, 281.
- Korczak J., Janitz W., Hęś M. 1998a. Hydrolizat śrutu rzepakowej jako źródło naturalnych przeciwutleniaczy. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XIX (1): 267-278.
- Korczak J., Janitz W., Pokorny J., Nogala-Kałużka M. 1998b. Synergism of natural antioxidants in stabilizing of fat and oils. *Proceedings of World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing, Istanbul 1996*. In "Proceedings of World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing". Eds. S.S. Koseoglu, K.C. Rhee, R.F. Wilson, vol. II: *Advances in oils and oats, antioxidants, and oilseed by-products*, AOCS Press, Champaign, 253-255.
- Lahl W.J., Braun S.D. 1994. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Technol.*, 48 (10): 68-71.
- Larsen K. 1989. Methods for measuring autooxidation resistance. *Lipidforum, 15th Scandinavian Symposium on Lipids*.
- Läubli M.W., Bruttel P.A. 1986. Determination of the oxidative stability of fats and oils: comparison between the Active Oxygen Method (AOCS Col 12-57) and the Rancimat method. *JAOCS*, 63: 792-794.
- Lauridsen J., Schultz A. 1993. Antioxidants: improving the shelf life of food products. *Food marketing & technology*, 19: 6-10.
- Lingnert H., Vallentin K., Eriksson C.E. 1979. Measurement of antioxidative effect in model system. *J. Food Proc. Preserv.*, 3: 87-103.
- Lingnert H., Eriksson C.E. 1980a. Antioxidative Maillard reaction products. I. Products from sugars and free amino acids. *J. Food Proc. Preserv.*, 4: 161-172.
- Lingnert H., Eriksson C.E. 1980b. Antioxidative Maillard reaction products. II. Products from sugars and peptides or proteins hydrolysates. *J. Food Proc. Preserv.*, 4: 173-181.

- Löliger J., Lambelet P., Aeschbach R., Prior E.M. 1996. Natural antioxidants: from radical mechanism to food stabilization. *Food Lipids and Health*: 315-343.
- Moon G., Lee M., Lee Y., Trakoontivakorn 2002. Main component of soy source representing antioxidant activity. *Int. Congress Series*, 1245: 509-510.
- 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 Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przem. Spoż.*, 1: 57-71.
- Pazoła Z. 1970. *Technologia koncentratów spożywczych*. WNT, Warszawa.
- Płatek T. 1995. Metoda określania stabilności oksydacyjnej olejów i tłuszczów w aparacie Rancimat. *Tłuszcze Jadalne*, 30 (1): 24-34.
- Pordąb Z., Majchrzak E. 1998. Białko w modyfikowanym mleku dla niemowląt. *Przem. Spoż.*, 11: 34-36.
- Pour-El A. 1981. Protein functionality: classification, definition, and methodology. W: *Protein functionality in foods*. AOCS, Washington D.C. Za: Mahmoud M.I. 1994. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technol.*, 10: 89-95.
- Pratt D.E., Di Pietro C., Porter W.L., Giffe J.W. 1981. Phenolic antioxidant of soy protein hydrolysates. *J. Food Sci.*, 47: 24-25.
- Ragnarsson J.O., Labuza T.P. 1977. Accelerated shelf-life testing for oxidative rancidity in foods. *Food Chem.*, 2: 291-308.
- Seher A., Löscher D. 1986. Natürliche Antioxidanten. VI. Aminosäure-Gemische als effiziente Synergisten. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 88: 1-6.
- Synowiecki J., Sikorska-Wiśniewska G. 1997. Funkcjonalne właściwości i żywieniowe zastosowanie hydrolizatów białkowych. *Żywność, Technologia, Jakość*, 3 (12): 20-27.
- Wan J.P. 1995. Accelerated stability methods. In: *Methods to assess quality and stability of oils and fat containing foods*. AOCS Press, 179-189.