Bogdan PACHOŁEK, Maria MAŁECKA

OCENA AKTYWNOŚCI PRZECIWUTLENIACZY W TŁUSZCZACH I W UKŁADACH MODELOWYCH

Autooksydacja należy do najważniejszych procesów chemicznych zachodzących w żywności i jest przyczyną niepożądanych zmian w surowcach i produktach żywnościowych zarówno podczas procesów technologicznych, jak i przechowywania. Reakcje utlenienia powodują nie tylko pogorszenie cech sensorycznych produktu, ale mogą przyczynić się do obniżenia jego wartości odżywczej oraz powstania związków szkodliwych dla zdrowia.

Tłuszcze są składnikiem żywności szczególnie podatnym na procesy oksydacyjne. W wyniku utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych tworzą się reaktywne rodniki i wodoronadtlenki, inicjujące przemiany innych związków podatnych na utlenianie, np. białek, aminokwasów, witamin. Wyniki wielu prac badawczych wskazują na toksyczne i rakotwórcze właściwości produktów utlenienia kwasów tłuszczowych oraz kompleksów utlenionych tłuszczów z innymi składnikami żywności [6], [8], [16].

Autooksydacja stanowi skomplikowany cykl reakcji, a bardzo mała energia aktywacji, wpływ katalizatorów, właściwości frakcji tłuszczowej, a także obecność innych składników żywności powodują, iż jest to proces trudny do zahamowania [5], [8], [17]. Zastosowanie przeciwutleniaczy, związków zdolnych do przerywania łańcuchowej reakcji rodnikowej, „zmiatania" rodników, inicjujących procesy utleniania czy chelatowania jonów metali katalizujących oksydację, pozwala na znaczne ograniczenie zasięgu oksydacji oraz wydłużenie okresu trwałości tłuszczów i produktów tłuszczowych. Odrębnym zagadnieniem jest hamowanie utleniania enzymatycznego katalizowanego przez lipooksygenazy.

Ocena aktywności przeciwutleniaczy w złożonym układzie, jaki stanowią produkty żywnościowe, jest problemem trudnym, szczególnie w przypadku stosowania naturalnych preparatów o działaniu przeciwutleniającym. Powodem tego mogą być zjawiska międzyfazowe, występujące w zdyspergowanym ukła-

Zasady i przykłady zastosowań wybranych metod określania efektywności danego związku jako „zmiatacza" modelowych wolnych rodników

Nazwa metody	Opis metody	Przykłady zastosowań
Metoda z rodnikiem DPPH	Metoda ta pozwala ocenić zdolność substancji (ekstraktów) do wygaszania rodnika DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylhydrazyl) w czasie. Zdolności przeciwrodnikowe substancji ocenia się na podstawie pomiaru szybkości spadku absorbancji roztworu $DPPH^{\bullet}$ pod wpływem dodanego przeciwutleniacza przy długości fali 515 nm. Miarą aktywności przeciwrodnikowej jest parametr AE (*antiradical efficiency*), obliczany na podstawie wzoru: $AE = 1/(EC_{50} \times T_{EC50})$, w którym: EC_{50} – stężenie przeciwutleniacza potrzebne do obniżenia początkowej zawartości $DPPH^{\bullet}$ o 50%, T_{EC50} – czas potrzebny do osiągnięcia stałego stężenia $DPPH^{\bullet}$ przy stężeniu przeciwutleniacza odpowiadającym EC_{50}.	W badaniach Sanchez-Moreno gradacja związków od najsilniejszego do najsłabszego przeciwutleniacza przedstawia się następująco: AE ($\times 10^{-3}$) kwas askorbinowy 11,44 kwas kawowy 2,75 kwas galusowy 2,62 α-tokoferol 0,52 rutyna 0,21 kwercetyna 0,19 kwas ferulowy 0,12 BHA 0,10 resweratrol 0,05
Metoda FRAP (*ferric reducing antioxidant power*)	Metoda oparta na zdolności redukcji kompleksu Fe^{+3} z tripirydylotriazyną (Fe^{+3} – TPTZ) do kompleksu z żelazem dwuwartościowym (Fe^{+2}) przez badaną substancję o właściwościach redukujących. Pomiaru spadku absorbancji kompleksu Fe^{+3} – – TPTZ dokonuje się spektrofotometrycznie przy długości fali 583 nm. Metoda nie zawsze poprawnie mierzy zdolności przeciwutleniające, ponieważ nie każdy przeciwutleniacz wykazuje zdolności do redukcji Fe^{+3}.	Wśród związków testowanych tą metodą najlepszym przeciwutleniaczem jest kwas galusowy, natomiast troloks i witamina C mają równą siłę. Metoda jest szeroko rozpowszechniona ze względu na szybkość oznaczania i łatwość w obsłudze technicznej przy określaniu aktywności antyoksydacyjnej napojów, soków oraz innych produktów spożywczych, przypraw i roślin leczniczych. Przykładowe wartości FRAP (μmol Fe^{2+}/100 g produktu): truskawki 3352 brokuły 833 maliny 2325 cebule 369 szpinak 1009 pomidory 344 jabłka 394

Metoda TEAC (*trolox® equivalent antioxidant activity*)	Metoda polega na wyznaczeniu wartości TEAC – troloksowego równoważnika zdolności antyoksydacyjnej, stanowiącego dla badanej substancji miarę jej efektu antyoksydacyjnego w porównaniu z aktywnością troloksu® – rozpuszczalnej w wodzie pochodnej witaminy E, a w metodzie stosowanej jako wzorzec. Jako rodnik wykorzystuje się generowany w układzie peroksydazy metmioglobiny/H_2O_2 kationorodnik $ABTS^{\bullet+}$ (2,2'-azynobis-3-etylobenzenotiazolino-6-sulfonian dwuamonowy). Określenie stopnia aktywności przeciwutleniającej dokonuje się na podstawie pomiaru spadku absorbancji zielono-granatowego kationorodnika przy długości fali 734 nm w stałym czasie. Jednostka aktywności TEAC definiowana jest jako milimolowe stężenie troloksu, które wykazuje aktywność przeciwutleniającą, równoważną stężeniu 1mM badanej substancji.	*Jest to metoda opracowana początkowo do pomiarów aktywności przeciwutleniającej płynów fizjologicznych, następnie rozszerzona do badania związków polifenolowych, karotenoidów i tokoferoli, ekstraktów z produktów spożywczych i napojów. Metodę TEAC można stosować zarówno do związków hydrofilowych, jak i hydrofobowych.* Przykładowe wartości TEAC: związek fenolowy (w µmolach troloksu) 4,7; 2,4; 1,9; 1,5; 1,1; 1,0; 1,0; 1,0 produkt (w µmolach troloksu/ /100 g produktu) truskawki 2591; maliny 1486; szpinak 757; brokuły 648; cebule 523; jabłka 343; pomidory 255
Metoda ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*)	W metodzie wykorzystywana jest zdolność białka fikoerytryny (β-PE) do fluorescencji. W wyniku termicznego rozkładu AAPH (chlorek dihydro-2,2'-azobis-2-aminopropanu) wytwarzane są rodniki nadtlenkowe, które, atakując białko, niszczą jego strukturę, wskutek czego następuje zanik fluorescencji białka wprost proporcjonalny do stężenia wolnych rodników. Przeciwutleniacz, dodany do mieszaniny reakcyjnej, chroni białko przed uszkodzeniem powodowanym przez wolne rodniki tlenowe dzięki zdolności zmiatania tych rodników. Dodatek przeciwutleniacza zmiatającego rodniki nadtlenkowe chroni białko przed uszkodzeniem w stopniu zależnym od aktywności przeciwutleniającej. Pomiary zmian fluorescencji badanej próbki umożliwiają określenie zdolności danego przeciwutleniacza do zmiatania wolnych rodników tlenowych w odniesieniu do troloksu, stosowanego w metodzie jako wzorzec.	Metoda ta uznawana jest za metodę stosunkowo prostą, bardzo czułą i wiarygodną. Znalazła zastosowanie zarówno do oceny aktywności związków fenolowych, jak i produktów spożywczych. Przykładowe wartości ORAC: związek fenolowy: kwercetyna 3,29; katechina 2,49; kwas kawowy 2,23; kwas galusowy 1,74; kwas ferulowy 1,33; rutyna 0,56 produkt: borówki 40-50; czosnek 23,2; porzeczki czarne 24-39; winogrona 4,5-7,4; jabłka 2,2; pomidory 1,9

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: [2], [4], [15], [18], [19], [20], [21], [22], [23], [26], [27].

dzie charakterystycznym dla większości produktów żywnościowych, a także podział przeciwutleniaczy w środowisku, wynikający ze zróżnicowanych właściwości dyfuzyjnych. Dlatego ustalenie optymalnych warunków ochronnego działania przeciwutleniaczy jest zadaniem trudnym i wymaga prześledzenia ich aktywności w różnych środowiskach.

Opracowano wiele metod oznaczania aktywności przeciwutleniającej pojedynczych związków i preparatów. Poszczególne metody odzwierciedlają często różne właściwości badanych substancji. Najczęściej stosowane metody można podzielić na dwie zasadnicze grupy:

– metody oceny właściwości przeciwrodnikowych,
– metody oceny stabilności substratu lipidowego.

1. Metody oceny właściwości przeciwrodnikowych

Metody oceny właściwości przeciwrodnikowych polegają na ocenie aktywności przeciutleniającej danego związku jako „zmiatacza" modelowych stabilnych rodników lub rodników generowanych enzymatycznie, fotochemicznie lub chemicznie. Do detekcji poziomu rodników w zależności od aktywności przeciwutleniacza wykorzystuje się pomiary spektrofotometryczne, chemiluminescencyjne lub spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR).

Do metod określania efektywności danego związku jako „zmiatacza" modelowych wolnych rodników możemy zaliczyć np. test z rodnikiem DPPH (2,2--difenylo-1-picrylhydrazyl), TEAC (*trolox equivalent antioxidant activity*), ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*), FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), test w układzie kwas linolowy-β-karoten. W tabeli przedstawiono zasady wybranych metod określania efektywności danego związku jako „zmiatacza" wolnych rodników i ich ogólny opis.

Test w układzie kwas linolowy-β-karoten [25] polega na pomiarze szybkości degradacji β-karotenu pod wpływem rodników, powstałych w wyniku autooksydacji kwasu linolowego w układzie pomiarowym. Metoda pozwala na wnioskowanie o właściwościach przeciwutleniających badanych próbek na podstawie szybkości degradacji β-karotenu, mierzonej jako spadek absorbancji próbek przy określonej długości fali (470 nm).

Do zainicjowania autooksydacji kwasu linolowego stosowana jest zazwyczaj podwyższona temperatura (50-60°C). Niektórzy badacze stosują kwas linolenowy zamiast kwasu linolowego [29]. Spektrofotometryczny pomiar zabarwienia roztworu β-karotenu podczas utleniania kwasu linolowego lub linolenowego jest prosty i czuły.

2. Metody oceny stabilności substratu lipidowego

Metody oceny stabilności substratu lipidowego polegają na określaniu skuteczności danego związku jako czynnika hamującego proces autooksydacji substratu lipidowego (tłuszczów, wolnych kwasów tłuszczowych czy lipoprotein). Określenie stopnia degradacji substratu tłuszczowego, będącego następstwem procesu utleniania, lub ilościowe oznaczenie produktów utlenienia pozwala na wnioskowanie o skuteczności analizowanej substancji jako przeciwutleniacza. Metody te są również wykorzystywane do oceny stabilności tłuszczów.

Metody określania skuteczności badanego związku jako czynnika hamującego proces autooksydacji substratu lipidowego różnią się między sobą przede wszystkim: stosowanym substratem lipidowym, warunkami inkubacji substratu, metodą oznaczenia stopnia utlenienia próbki. Zazwyczaj wybór zastosowanej metody zdeterminowany jest zastosowanym substratem tłuszczowym.

W celu oceny stabilności oksydatywnej tłuszczów, prognozowania ich trwałości oraz sprawdzania aktywności przeciwutleniaczy stosuje się przechowywanie próbek w praktycznych warunkach składowania (temperatura pokojowa, światło rozproszone lub bez dostępu światła) lub w warunkach przyspieszonego starzenia.

Praktyczne warunki składowania polegają na przechowywaniu substratu tłuszczowego w normalnych warunkach przechowalniczych zalecanych dla danego rodzaju substratu i na okresowym badaniu wyróżników sensorycznych lub chemicznych, opisujących stopień utlenienia próbki. Choć najpełniej w teście tym opisuje się zmiany oksydatywne tłuszczu w czasie przechowywania, to ich wadą jest długi czas trwania doświadczenia, co ogranicza przydatność tego testu.

Testy z wykorzystaniem warunków przyspieszonego starzenia pozwalają wnioskować o podatności badanego substratu tłuszczowego na utlenienie w określonych warunkach. Wybór warunków przyspieszonego starzenia (temperatura, czas, dostęp tlenu, katalizatory, naświetlanie światłem UV) warunkuje rodzaj substratu, który będzie poddany badaniom. Zakłada się wówczas, że w warunkach doświadczenia intensywność przemian ulega przyspieszeniu, ale kierunek i mechanizm tych przemian pozostają takie same, jak w warunkach praktycznego składowania.

Podwyższona temperatura jest najczęściej stosowanym aktywatorem w procesach przyspieszonego starzenia. W obecności przeciwutleniaczy energia aktywacji utleniania tłuszczów wzrasta, jako że przeciwutleniacze zmniejszają szybkość reakcji utleniania przez podniesienie ogólnej energii aktywacji. Zależność temperaturowa jest różna dla tłuszczu zawierającego naturalne przeciwutleniacze i tego samego tłuszczu z dodatkiem przeciwutleniaczy. Dlatego ocena właściwości przeciwutleniających (uszeregowanie przeciwutleniaczy) zależy również od zastosowanych temperatur w testach przyspieszonych [14], [28].

Typowe przechowywanie z dostępem powietrza w warunkach praktycznego ich składowania jest najbliższe naturalnym, jednak czas trwania takich badań jest długi, co ogranicza znacznie praktyczność takiego testu. Poza tym, przy powolnym utlenianiu, powtarzalność wyników jest uzależniona od wielu czynników trudnych do kontrolowania. W warunkach przyspieszonego starzenia proces utleniania zachodzi szybciej i jest łatwiejszy do kontrolowania. Jednak należy pamiętać, iż w obecności aktywatorów mechanizm utlenienia może ulegać zmianom w stosunku do procesów zachodzących w warunkach praktycznego składowania żywności. Powoduje to powstawanie różnych produktów degradacji zarówno pośrednich, jak i końcowych, a co za tym idzie – różnych zmian jakościowych produktu [7].

2.1. Charakterystyka wybranych testów stabilności substratów lipidowych

Do najbardziej znanych testów stabilności substratów lipidowych w warunkach przyspieszonego starzenia należą m.in.: test termostatowy, Swifta (*acitive oxygen metod* – AOM), Rancimat, test Oxidograph, test różnicowej kalorymetrii skaningowej (*differential scanning calorimetry* – DSC), test manostatyczny [9], [24].

W teście termostatowym (test Schaala) próbkę tłuszczu przechowuje się zazwyczaj w temperaturze 60-70°C. Z uwagi na to, iż w temperaturze 60°C liczba niepożądanych reakcji jest minimalna, test ten ma nieliczne ograniczenia. Punktowi końcowemu odpowiada niższy poziom utlenienia, a relacja wyników do rzeczywistej trwałości produktu jest zadowalająca. Powyżej 100°C reakcje te mają duży wpływ na zasięg oksydacji kwasów tłuszczowych. Testy wykorzystujące wyższe temperatury wydają się mniej przydatne w ocenie stabilności tłuszczów, jako że mechanizm reakcji utleniania zmienia się dość zdecydowanie w tak podwyższonych temperaturach i nie jest porównywalny z procesami zachodzącymi w żywności podczas praktycznych warunków przechowywania [14], [28].

W teście AOM próbkę tłuszczu w aparacie Swifta poddaje się przyspieszonemu starzeniu w wyniku działania podwyższonej temperatury i intensywnego natlenienia. W klasycznej metodzie o zasięgu zmian oksydacyjnych wnioskuje się na podstawie wartości liczby nadtlenkowej [1].

Metoda Rancimat jest zautomatyzowanym testem instrumentalnym, w którym o przebiegu utleniania próbek substratu tłuszczowego wnioskuje się na podstawie zmian przewodnictwa elektrycznego wody, wywołanych gromadzeniem się w niej karboksylowych produktów rozkładu kwasów tłuszczowych. Metoda ta wymaga osiągnięcia najwyższego poziomu utlenienia próbki (liczba nadtlenkowa > 100) spośród wszystkich wymienionych tu metod [7]. O stabilności próbki tłuszczu wnioskuje się na podstawie długości okresu indukcji.

W teście Oxidograph próbkę tłuszczu poddaje się działaniu podwyższonej temperatury i intensywnemu mieszaniu. W wyniku pochłaniania tlenu przez utleniającą się próbkę tłuszczu następuje gwałtowny spadek ciśnienia tlenu w autoklawie. Na podstawie pomiaru szybkości spadku ciśnienia w autoklawie wyznacza się okres indukcji [13].

Test różnicowej kalorymetrii skaningowej polega na tym, iż próbkę tłuszczu umieszcza się w termostacie kalorymetru różnicowego, następnie poddaje się działaniu podwyższonej temperaturze i intensywnemu natlenieniu. W wyniku utleniania się próbki tłuszczu następują zmiany termiczne, które rejestrowane są w postaci krzywych kinetycznych procesu utleniania. O stabilności próbek tłuszczu wnioskuje się na podstawie długości okresów indukcji, wyznaczonych na podstawie krzywych opisujących kinetykę procesu utleniania [12].

W teście manostatycznym aktywatorem procesu utleniania tłuszczu, podobnie jak w teście AOM, jest podwyższona temperatura i intensywne natlenienie. O zasięgu zmian oksydacyjnych wnioskuje się na podstawie objętości pochłoniętego tlenu, mierzonej za pomocą urządzenia manostatycznego [24].

2.2. Metody oceny stopnia utlenienia kwasów tłuszczowych

Do pomiaru stopnia utlenienia próbki po określonym czasie jej inkubacji w warunkach testu wykorzystuje się różne metody, np. badania sensoryczne, analizę związków lotnych, oznaczanie ilości zaadsorbowanego tlenu, oznaczanie zawartości pierwotnych (nadtlenki) i wtórnych produktów utleniania, reakcje z kwasem TBA, pomiar wydzielania się ciepła reakcji, oznaczanie zawartości skoniugowanych dienów. Różnią się one czułością oraz odpornością na wpływ substancji towarzyszących, co powoduje, że nie zawsze odzwierciedlają rzeczywisty zasięg oksydacji. Zazwyczaj miarą stabilności substratu lipidowego jest długość okresu indukcji, który wyznaczany jest na podstawie przebiegu krzywej kinetycznej, opisującej utleniania się próbki tłuszczu w warunkach testu. Metody sensoryczne, oparte na badaniu smaku i zapachu, dostarczają najbardziej przydatnych informacji z punktu widzenia konsumenta. Metody te są bardzo czułe, lecz w dużym stopniu zależą od wyszkolenia sensorycznego panelu oceniającego. Wartościowanie wyróżników sensorycznych tej samej próbki może się znacząco zmieniać w zależności od laboratorium, co niewątpliwie jest pewną słabością tych ocen.

Analiza chromatograficzna lotnych produktów utlenienia i rozkładu kwasów tłuszczowych jest ściśle związana ze zmianami smaku i zapachu, stąd jest ona najłatwiejsza do porównania z wynikami testów sensorycznych. Badania chromatograficzne zawartości np. pentanalu, heksanalu, heptanalu mogą także dostarczyć danych na temat pochodzenia produktów rozkładu i ich prekursorów [10].

Metody wykorzystujące pomiar ilości zaabsorbowanego tlenu mają ograniczoną czułość i wymagają wysokiego stopnia utlenienia próbki, co wiąże się z wydłużeniem czasu oznaczenia.

Oznaczenie zawartości nadtlenków zapewnia empiryczne określenie utlenienia, lecz jest mniej czułą i precyzyjną metodą niż analiza sensoryczna i oznaczanie lotnych produktów oksydacji. Informacje uzyskiwane na drodze pomiaru ilości zaabsorbowanego tlenu oraz liczby nadtlenkowej zależą ściśle od ilości nadtlenków powstałych w temperaturach powyżej 60°C (przy niektórych testach przyspieszonego starzenia). Według Frankela [7] zawartość nadtlenków olejów ogrzewanych w temperaturze 100°C (np. w warunkach oznaczenia AOM) ma nikłe bądź żadne podobieństwo do utlenienia w praktycznych warunkach przechowywania. Suma pierwotnych i wtórnych produktów utleniania tłuszczu może być również wyrażona jako liczba Totox, obliczona na podstawie liczby nadtlenowej i liczby anizydynowej.

Metoda TBARS (*thiobarbituric acid reactive substances*) [3], [11] jest jedną ze starszych metod pomiaru aktywności przeciwutleniającej w fazie lipidowej. Metoda ta bazuje na pomiarze stężenia produktów utlenienia, które przereagowały z kwasem tiobarbiturowym (TBA) w temperaturze 37°C. Reakcja peroksydacji lipidów katalizowana jest przez układ Fe^{+2} (lub Cu^{+2})/H_2O_2. Przy długości fali 535 nm oznacza się spektrofotometrycznie produkty utleniania lipidów, głównie dialdehyd malonowy (MDA). Wartość aktywności przeciwdziałania oksydacji kwasów tłuszczowych wyraża się ilościowo w jednostkach stężenia MDA lub jako wartość IC_{50} (stężenie badanej substancji, powodujące inhibicje utleniania lipidów o 50%). Test z kwasem 2-tiobarbiturowym jest bardzo prosty, czuły i precyzyjny, lecz niekiedy może prowadzić do błędnych wniosków, wynikających z niespecyficzności reakcji. W zależności od substratu tłuszczowego wiele pobocznych związków degradacji kwasów tłuszczowych może reagować z TBA, fałszując wynik oznaczenia. Metoda ta jest zalecana do śledzenia oksydacji kwasów tłuszczowych, zawierających wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Dotychczas nie wypracowano jednego testu, pozwalającego na ocenę zasięgu oksydacji i aktywności przeciwutleniającej. Porównanie wyników podawanych przez różnych autorów jest trudne, gdyż stosowane metody oparte są na różnych zasadach, a więc wyniki określają różne właściwości badanych substancji.

Biorąc pod uwagę przydatność przedstawionych wyżej metod w praktycznej ocenie stabilności tluszczów i ocenie aktywności przeciwutleniaczy, można je uszeregować w następujący sposób: analiza sensoryczna > analiza związków lotnych > ilość zaadsorbowanego tlenu > zawartość nadtlenków > test z kwasem TBA [7].

Bibliografia

[1] *AOCS official and tentative methods of analysis, Fat stability, Active Oxygen Method*, Method 1989, s. 12-57.

[2] Benzie I.F.F., Strain J.J., *Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration*, Meth. Enzymol. 299, 1999, s. 15-27.

[3] Buege J.A., Aust S.D., *Microsomal lipid peroxidation*, Meth. Enzymol. 52, 1978, s. 302-310.

[4] Cao G., Sofic E., Prior R.L., *Antioxidant capacity of tea and common vegetables*, J. Agric. Food Chem. 44, 1996, s. 3426-3431.

[5] Drozdowski B., *Lipidy*, w: *Chemia żywności*, red. Z. Sikorski, WNT, Warszawa 2000.

[6] Frankel E.N., *Chemistry of autoxidation: Mechanism, products and flavor significances*, w: *Flavor chemistry of fats and oils*, eds D.B. Min, T.H. Smouse, Amer. Oil Chem. Soc., Columbus 1985.

[7] Frankel E.N., *In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative in food lipids*, Frends in Food Science & Technology 4, 1993, s. 220-225.

[8] Frankel E.N., *Lipid oxidation*, The Oily Press Dundee Ltd., 1998.

[9] Gordon M.H., *Measuring antioxidant activity*, w: *Antioxidants in food*, eds J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press, Boca Raton-London-New York-Washington, D.C., 2001.

[10] Gordon M.H., *The development of oxidative rancidity in foods*, w: *Antioxidants in food*, eds J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press, Boca Raton-London-New York-Washington, D.C., 2001.

[11] Haenen G.R.M.M., Bast A., *Protection against lipid peroxidation by a microsomal gluthatione-dependent labile factor*, FEAS Lett. 159, 1983, s. 24-28.

[12] Kowalski B., Gruczyńska E., Maciaszek K., *Kinetics of rapeseed oil oxidation by pressure differential skaning calorimetry measurements*, Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2000, s. 337-341.

[13] Lauridsson J., Schultz A., *Antioxidants: Improving the shelf live of food products*, Food Marketing & Technology 19, 1993, s. 6-10.

[14] Marinova E.M., Yanishlieva N., *Effect of temperature on the antioxidative action of inhibitors in lipid autoxidation*, J. Sci. Food Agric. 60, 1992, s. 313-318.

[15] Miller N.J., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A., *A novel method for measuring antioxidant capacity and its aplication to monitoring the antioxidant status in premature neonatants*, Clinical Sci. 84, 1993, s. 407-412.

[16] Pokorny J., *Effect of lipid degradation on taste and odor of foods*, Nahrung 34, 1990, s. 887-897.

[17] Pokorny J., *Wpływ składników nietłuszczowych na utlenianie się olejów i tłuszczów*, Przemysł Spożywczy 36, 1982, s. 41-44.

[18] Protaggente A.R., Pannala A.S., Paganga G., van Buren L., Wagner E., Wiseman S., van de Put F., Dacombe C., Rice-Evans C.A., *The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition*, Free Rad. Res. 36 (2), 2002, s. 217-233.

[19] Rice-Evans C., Miller N.J., *Total antioxidant status in plasma and body fluids*, Meth. Enzym. 234, 1994, s. 279-289.

[20] Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G., *Antioxidant properties of phenolic compounds*, Trends Plant Sci. 2, 1997, s. 152-159.

[21] Rice-Evans C., Miller N.J., Paganga G., *Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids*, Free Rad. Biol. Med. 20, 1996, s. 933-956.

[22] Sanchez-Moreno G., Larrauri J.A., Saura-Calixto F., *A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols*, J. Sci. Food Agric. 76, 1998, s. 270-276.

[23] Schlesier K., Harwat M., Bohm V., Bitsch R., *Assessment of antioxidant activity by useing different in vitro methods*, Free Rad. Res. 36 (2), 2002, s. 177-187.

[24] Szukalska E., Drozdowski B., *Metoda manostatyczna badania stabilności oksydatywnej tłuszczów*, Przemysł Spożywczy 47, 1993, s. 108-110.

[25] Taga S.M., Miller E.E., Pratt D.E., *Chia seeds as a source of natural lipids antioxidants*, J. Am. Oil Chem. Soc. 61, 1984, s. 928-931.

[26] Tyrakowska B., Soffers A.E.M.F., Szymusiak H., Boersma M.G., Boeren S., Lemańska K., Vervoort J., Rietjens I.M.C.M., *The TEAC antioxidant activity of 4-hydroxybenzoates*, Free Rad. Biol. Med. 27, 1999, s. 1427-1436.

[27] Wang H., Cao R., Prior L., *Total antioxidant capacity of fruits*, J. Agric. Food Chem. 44, 1996, s. 701-705.

[28] Yanishlieva-Maslarova N.Y., *Inhibiting oxidation*, w: *Antioxidants in food*, eds J. Pokorny, N. Yanishlieva, M. Gordon, CRC Press, Boca Raton-London-New York-Washington, D.C., 2001.

[29] Zadernowski R., Nowak-Polakowska H., Lossow B., *Naturalne przeciwutleniacze tłuszczu w nasionach wybranych gatunków roślin*, Acta Acad. Agricult. Tech. Olst. 27, 1995, s. 107-118.

ASSESSMENT OF ANTIOXIDANTS' ACTIVITY IN FATS AND IN MODEL SYSTEMS

Summary

An effective method of improving durability of fats is the use of antioxidants. Their presence in food is responsible for the fact that, while preserving sensory discriminants of the product, we can simultaneously reduce the loss of nutritive value. There are many ways to mark the antioxidant activity of particular compounds or products based on reduction of oxidation products by antioxidant compounds. A basis of this method are

typical reactions between free radicals and certain substances which yield products easy to identify and quantify. Particular methods differ in the type of radicals, process of generating them and the kind of phenomena which accompany the reactions where free radicals participate. The article discusses the problems of assessing the activity of antioxidants in fats and in model systems. It also characterizes briefly the selected methods, gives some principles and possibilities of their application as well as restrictions.

Tłum. *Ewa Kotkowska*