Katarzyna Mikołajczyk-Bator

ZNACZENIE ROŚLINNYCH METABOLITÓW WTÓRNYCH W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI SENSORYCZNEJ I ZDROWOTNEJ PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH Z BURAKA ĆWIKŁOWEGO

WYDAWNICTWO UEP

UNIWERSYTET EKONOMICZNY W POZNANIU

Katarzyna Mikołajczyk-Bator

ZNACZENIE ROŚLINNYCH METABOLITÓW WTÓRNYCH W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI SENSORYCZNEJ I ZDROWOTNEJ PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH Z BURAKA ĆWIKŁOWEGO

WYDAWNICTWO UEP

UNIWERSYTET EKONOMICZNY W POZNANIU

Poznań 2018

KOMITET REDAKCYJNY
Szymon Cyfert, *Elżbieta Gołata* (przewodnicząca), *Jacek Lisowski*, *Ewa Małuszyńska*, *Jerzy Schroeder* (sekretarz), *Krzysztof Walczak*, *Ryszard Zieliński*

RECENZENCI
Anna Gramza-Michałowska, Stanisław Popek

PROJEKT OKŁADKI
Boobry Group
Marta Brzóstowicz

REDAKCJA
Anna Grześ

KOREKTA
Deal

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/07/B/NZ9/00047.

© Copyright by Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu
Poznań 2018

Ta książka jest udostępniana na licencji Creative Commons – Uznanie autorstwa-Użycie niekomercyjne-Bez utworów zależnych 4.0 Międzynarodowe

ISBN 978-83-7417-989-8
eISBN 978-83-66199-84-2
https://doi.org/10.18559/978-83-66199-84-2

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU EKONOMICZNEGO W POZNANIU
ul. Powstańców Wielkopolskich 16, 61-895 Poznań
tel. 61 854 31 54, 61 854 31 55
www.wydawnictwo.ue.poznan.pl, e-mail: wydawnictwo@ue.poznan.pl
adres do korespondencji: al. Niepodległości 10, 61-875 Poznań

Skład: Wydawnictwo eMPi^2
Reginaldo Cammarano

Druk: Zakład Graficzny Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu
ul. Towarowa 53, 61-836 Poznań, tel. 61 854 38 06

SPIS TREŚCI

Wykaz skrótów 5

Wstęp 7

1. Charakterystyka rynku warzyw w Polsce 11
1.1. Rynek produktów spożywczych 11
1.2. Struktura spożycia produktów żywnościowych w latach 2010–2017 12
1.3. Znaczenie gospodarcze buraków ćwikłowych 14
1.4. Plony, zbiory i przetwórstwo warzyw w Polsce 17
1.5. Konsumpcja i ceny warzyw 18
1.6. Struktura produktów rolno-spożywczych w handlu zagranicznym 22
1.7. Handel zagraniczny warzyw 24

2. Surowiec roślinny jako źródło metabolitów wtórnych wpływających na jakość produktów spożywczych 26
2.1. Klasyfikacja metabolitów w surowcu roślinnym 26
2.2. Rola metabolitów wtórnych w surowcu 27
2.3. Właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych 32
2.4. Metabolity wtórne a smak buraków i ich przetworów 45

3. Analiza sensoryczna buraka ćwikłowego i jego produktów 48
3.1. Metody stosowane w badaniach jakości surowca i produktów z buraka ćwikłowego 48
3.1.1. Materiał badany i schemat eksperymentu 48
3.1.2. Izolacja metabolitów wtórnych z korzeni buraka ćwikłowego 50
3.1.3. Identyfikacja saponin triterpenowych z roślin *Beta vulgaris* 54
3.1.4. Oznaczanie ilościowej zawartości saponin triterpenowych 56
3.1.5. Analiza sensoryczna z udziałem zespołu oceniających 57
3.1.6. Analiza statystyczna 59
3.2. Zastosowanie metody analizy opisowej do klasyfikacji odmian korzeni buraka ćwikłowego na gorzkie i niewykazujące smaku gorzkiego 60
3.3. Analiza sensoryczna badanych odmian buraka ćwikłowego 66
3.4. Wpływ ogrzewania i przechowywania na ocenę sensoryczną soków z buraka ćwikłowego 69
3.5. Wpływ ogrzewania i przechowywania na ocenę sensoryczną przetworów z buraka ćwikłowego 73

4. Analiza towaroznawcza buraka ćwikłowego i jego produktów 81
4.1. Analiza jakościowa surowca 81
4.1.1. Określenie składu jakościowego saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego 82
4.1.2. Wpływ ogrzewania i przechowywania na zmiany składu jakościowego saponin triterpenowych w przetworach z buraka 102
4.2. Oznaczenia ilościowej zawartości saponin triterpenowych w świeżych odmianach buraka ćwikłowego 110
4.3. Oznaczanie ilościowej zawartości saponin triterpenowych po obróbce termicznej surowca i po przechowywaniu przetworów 112

5. Znaczenie metabolitów wtórnych w kształtowaniu smaku i właściwości prozdrowotnych buraka ćwikłowego i jego przetworów 115
5.1. Analiza sensoryczna smaku gorzkiego saponin wyizolowanych z buraka ćwikłowego i porównanie ich stężenia gorzkiego do wzorca smaku gorzkiego kofeiny oraz sojasaponiny I 115
5.2. Korelacja między zawartością saponin w świeżym buraku ćwikłowym a smakiem i posmakiem gorzkim 125
5.3. Model regresji liniowej związku między intensywnością cech goryczkowych a zawartością saponin w buraku ćwikłowym i jego przetworach 127
5.4. Aktywność antyoksydacyjna wyizolowanych mieszanin saponin ze świeżego buraka oraz jego przetworów 132
5.5. Model regresji liniowej związku między aktywnością antyoksydacyjną a zawartością saponin w buraku ćwikłowym 135
5.6. Barwniki betalainowe a właściwości przeciwutleniające 138

Podsumowanie 142

Bibliografia 148

Spis tabel i rysunków 162

The significance of secondary metabolites in shaping the sensory and health quality of food products made from beetroot (Summary) 165

WYKAZ SKRÓTÓW

ABTS	– 2,2'-azynobis-(3-ethylobenzotiazolino-6-sulfonian)
Act	– podstawnik acetalowy
dHex	– deoksyheksoza
Diox	– podstawnik dioksolanowy
EI	– jonizacja elektronami
ES	– (ang. *electrospray*) elektrosprej
ESI	– (ang. *electrospray ionization*) jonizacja przez elektrorozpraszanie
Hex	– heksoza
HPLC	– (ang. *high pressure/performance liquid* chromatography) wysokociśnieniowa/wysokosprawna chromatografia cieczowa
HR	– (ang. *high resolution*) wysokorozdzielczy
LR	– (ang. *low resolution*) niskorozdzielczy
MS	– spektrometria mas
MS/MS	– tandemowa spektrometria mas
m/z	– stosunek wartości masy do liczby ładunków (elektronu)
Pen	– pentoza
QDA	– (ang. *quantitative descriptive analysis*) metoda ilościowej analizy opisowej
DDMP	– 2,3-dihydro-2,5-dihydroksy-6-metylo-4-piron, gr. DDPM, sojasaponina βg
SPE	– (ang. *solid phase extraction*) ekstrakcja do fazy stałej
TEAC	– (ang. *trolox equivalent antioxidant capacity*) ekwiwalent aktywności antyoksydacyjnej troloksu
UrA	– kwas uronowy
HPLC/ESI-IT-MS	– wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) połączona z tandemowym spektrometrem mas (MS/MS^n)

UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS	– ultrasprawna chromatografia cieczowa (UPLC) połączona ze spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap
Widma MS^n	– widma fragmentacyjne uzyskane w tandemowej spektometrii mas

WSTĘP

Wzrost rozwoju gospodarczego jest determinowany głównie zwiększeniem udziału sfery przetwórczej i zaopatrzeniowej oraz zmniejszeniem udziału rolnictwa w kraju. To właśnie sektor nowoczesnego przemysłu i usług staje się głównym czynnikiem rozwojowym polskiej gospodarki narodowej (Mrówczyńska-Kamińska, 2014).

W ostatnich latach wciąż rośnie liczba zarejestrowanych odmian buraka ćwikłowego, dlatego na rynku krajowym obserwuje się coraz większą konkurencję tych odmian oferowanych producentom przez małe i średnie przedsiębiorstwa tworzące sektor nasienny. Najważniejszą strategią działania firm zagranicznych jest jakość odmian i nasion oraz sprawne zarządzanie i wzrost dynamiki sprzedaży i zysku. Z kolei firmy krajowe stawiają na posiadany dotychczas, pozytywny wizerunek firmy i istnienie lojalnych nabywców nasion. Jednak wobec dużej konkurencyjności ze strony zagranicznych firm hodowlanych wydaje się konieczne wprowadzenie zmian w krajowych przedsiębiorstwach (działających głównie na rynku krajowym) w taki sposób, aby wypromować polskie nasiona i ich przyszły potencjał aplikacyjny w przemyśle przetwórczym. To właśnie rynek nasienny stanowi istotny i ważny dział krajowego agrobiznesu, dostarczając podstawowego środka produkcji decydującego o efektywności produkcji roślinnej (Chotkowski, 2007). W Polsce burak ćwikłowy jest uprawiany na znacznej powierzchni – ponad 10 tys. ha – a zbiory tego surowca wynoszą 330 tys. ton rocznie. Duża powierzchnia uprawy i zbiorów buraka ćwikłowego jest związana z tradycją spożycia tego surowca w naszym kraju (3–4,5 kg/osobę/rok). Polska jest unijnym liderem w produkcji buraka ćwikłowego (ARR, 2017). W Europie roczne jego spożycie szacuje się na poziomie 8,2 kg na mieszkańca (Roemmelt, Franckenberg, Steuer i Kraemer, 2014).

Głównym czynnikiem determinującym wybór konkretnych odmian buraka w uprawie jest niestety nadal czynnik plonotwórczy. Z opinii producentów buraka ćwikłowego w Polsce wynika, że większość z nich zwiększyłaby produkcję polową tego surowca, głównie z przeznaczeniem buraków do przetwórstwa, poprzez wzrost plenności, czyli wydajności z jednostki powierzchni (Brzozowski i Zmarlicki, 2016). Dla rolników i producentów warzyw najważniejszy jest duży popyt na wyprodukowany surowiec, a dla producentów żywności świadomych wysokich oczekiwań konsumentów najważniejsze jest kupno surowca o najlepszych cechach jakościowych po jak najniższej cenie.

Najkorzystniejszą sytuacją z punktu widzenia ekonomicznego zarówno dla producentów warzyw, jak i producentów żywności jest zastosowanie takiego materiału siewnego, który zapewni wyprodukowanie surowca o możliwie najlepszych cechach sensorycznych i prozdrowotnych. W literaturze porównano wiele krajowych odmian buraka ćwikłowego, głównie pod względem ich plenności, a nie jakości sensorycznej i cech prozdrowotnych oraz potencjału aplikacyjnego.

Jakość sensoryczna jest istotnym czynnikiem przy wyborze żywności i jej spożywaniu przez konsumenta. Jest ona składową jakości ogólnej produktu spożywczego i stanowi zespół cech odbierany przez konsumenta za pośrednictwem zmysłów i oceniany kompleksowo (Kudełka, 2007). Wpływ na zdrowie jest dziś tym atrybutem żywności, który poza jakością sensoryczną i ceną najsilniej oddziałuje na zachowania nabywcze konsumentów w krajach gospodarczo rozwiniętych (Czapski i Górecka, 2014). Producenci żywności, starając się sprostać oczekiwaniom konsumentów, zwracają ich uwagę poprzez stosowanie takich sformułowań na etykiecie, jak: zdrowy, dietetyczny czy prozdrowotny, przy czym według specjalistów żywienia i żywności termin prozdrowotny wydaje się najwłaściwszy.

Ze względów poznawczych i aplikacyjnych różnych odmian buraka ćwikłowego ważne było określenie zmienności surowca pod względem walorów smakowych i prozdrowotnych. Podjęto studia literaturowe i przeprowadzono badania eksperymentalne, które mogłyby ocenić i rozszerzyć potencjał aplikacyjny różnych odmian buraka ćwikłowego w przemyśle rolno-spożywczym. **Głównym celem było określenie grupy naturalnych związków obecnych w buraku ćwikłowym wpływających na gorzki smak surowca i jego przetworów oraz ocena zmian zawartości i jakości związków gorzkich w czasie ogrzewania i przechowywania produktów z buraka ćwikłowego, a także wskazanie potencjału aplikacyjnego różnych odmian buraka ćwikłowego pod względem ich przydatności do wyrobu produktów spożywczych o wysokich walorach sensorycznych i prozdrowotnych.**

Teza

O jakości buraka ćwikłowego świadczy smak, który jest kluczowym wyróżnikiem jakości tego surowca. Dostępne w handlu odmiany buraka ćwikłowego wykazują różny smak, z dominującym smakiem słodkim lub gorzkim, a w trakcie przetwarzania surowca zachodzą zmiany sensoryczne.

Hipotezy:

1. Smak gorzki buraka ćwikłowego wynika z obecności saponin w surowcu i jest cechą odmianową tego surowca.
2. Obróbka termiczna surowca i długotrwałe przechowywanie gotowych produktów powoduje zmiany smaku wynikające z częściowej degradacji saponin.

3. Saponiny triterpenowe są grupą związków biologicznie czynnych, których obecność w buraku ćwikłowym może stanowić (obok betalain i polifenoli) o właściwościach prozdrowotnych surowca i jego przetworów.

W celu weryfikacji hipotez zaplanowano następujące cele cząstkowe:

- izolacja i identyfikacja naturalnych związków obecnych w buraku ćwikłowym wpływających na smak gorzki surowca i jego przetworów;
- ocena zmian zawartości i jakości saponin w przetworach z buraka poddanych ogrzewaniu i przechowywaniu;
- analiza sensoryczna różnych odmian buraka i jego produktów oraz wyizolowanych mieszanin saponin;
- określenie progów rozpoznania smaku gorzkiego mieszanin saponin i porównanie do wzorca smaku gorzkiego kofeiny oraz nowo zaproponowanego wzorca sojasaponiny I (gorzkiej saponiny);
- określenie aktywności antyoksydacyjnej wyizolowanej mieszaniny saponin z buraka ćwikłowego i jego przetworów.

Przedstawione w pracy wykresy i tabele zostały opracowane na podstawie oryginalnych danych dostępnych w literaturze oraz własnych badań eksperymentalnych opublikowanych lub nieopublikowanych. Dzięki finansowaniu przez Narodowe Centrum Nauki projektu naukowego nr UMO-2012/07/B/NZ9/00047, OPUS 4 możliwe było wykonanie wielu badań eksperymentalnych i analiz chromatograficznych opisanych w niniejszej monografii. Koncepcja realizowanego projektu badawczego była pomysłem własnym autorki monografii. Projekt realizowano w latach 2013–2017.

W rozdziale pierwszym, na podstawie studiów literaturowych, dokonano analizy funkcjonowania rynku warzyw w Polsce oraz w Unii Europejskiej.

W rozdziale drugim scharakteryzowano surowiec (buraka ćwikłowego), będący źródłem metabolitów wtórnych wpływających na jakość produktów spożywczych, w tym na smak gorzki surowca.

W rozdziale trzecim opisano metodologię badań i przedstawiono rezultaty analiz sensorycznych buraka ćwikłowego i jego produktów, tj. soków i przetworów wyprodukowanych w skali laboratoryjnej. Określono wpływ procesów ogrzewania i przechowywania na zmiany różnych deskryptorów smaku badanych produktów z buraka oraz przedstawiono praktyczne informacje na temat przydatności różnych odmian buraka do przetwórstwa, podając ich klasyfikację na odmiany gorzkie i niewykazujące smaku gorzkiego. Informacje te są przydatne dla rolników, towaroznawców i producentów żywności w zakresie uprawy surowca i otrzymywania produktów spożywczych o wysokich walorach sensorycznych.

Rozdział czwarty dotyczy analizy towaroznawczej buraka ćwikłowego i jego produktów, takich jak soki i przetwory. W rozdziale tym opisano skład jakościowy

i zawartość saponin triterpenowych wyizolowanych z różnych odmian i części świeżych korzeni buraka ćwikłowego i jego przetworów ogrzewanych oraz przechowywanych. Ponadto porównano zawartość saponin w sokach, miąższach, skórach i wytłokach wielu odmian buraka ćwikłowego.

W rozdziale piątym przedstawiono znaczenie saponin triterpenowych w kształtowaniu smaku i właściwości prozdrowotnych buraka ćwikłowego i jego przetworów. Smak gorzki saponin triterpenowych porównano do substancji wzorcowej smaku gorzkiego – kofeiny (alkaloid) – oraz do sojasaponiny I (gorzka saponina). Coraz liczniej pojawiajce się nowe składniki gorzkie, w tym saponiny, nie zawsze wykazują podobieństwo chemiczne do proponowanej w polskiej normie (PN-ISO 3972:2016–07) substancji wzorcowej rozpoznawania smaku gorzkiego (kofeiny). Poszczególne typy receptorów TAS2R (np. TAS2R 10, TAS2R 46) wykazują zdolność rozpoznania ściśle określonych grup związków gorzkich. Może się zatem zdarzyć, że nie wszystkie osoby posiadają dany receptor lub receptory TAS2R (nie odziedziczyły tej zdolności) i dana grupa związków nie będzie dla tych osób gorzka. Wielu autorów wskazuje, że receptory smaku gorzkiego różnią się szerokością strojenia, czyli możliwością rozpoznawania konkretnych gorzkich związków chemicznych. Przedstawiono nowy wzorzec substancji gorzkiej – sojasaponiny I dla saponin wyodrębnionych z korzeni buraka ćwikłowego. Wzorzec ten posłużył do porównania wyznaczonych progów rozpoznania smaku gorzkiego saponin wyizolowanych z różnych odmian buraka ćwikłowego do wyznaczonego progu rozpoznania smaku gorzkiego sojasaponiny I. W rozdziale piątym omówiono również działanie antyoksydacyjne saponin buraka ćwikłowego i jego przetworów ogrzewanych i przechowywanych.

W podsumowaniu przedstawiono perspektywy aplikacyjnego wykorzystania różnych odmian buraka ćwikłowego w przemyśle przetwórczym. Przedstawiono wyznaczone kryteria doboru surowców w celu otrzymania produktu spożywczego o wysokiej jakości sensorycznej i właściwościach prozdrowotnych. Kryteria te zostały określone na podstawie uzyskanych rezultatów przeprowadzonych badań składu jakościowego buraków pozwalających na wstępne zidentyfikowanie nowych, nieopisanych dotąd saponin oraz na podstawie analitycznych badań sensorycznych. Ponadto przedstawiono wskazówki dla producentów żywności i towaroznawców dotyczące przeznaczenia różnych odmian buraka ćwikłowego do wyrobu konkretnych produktów spożywczych o wysokich walorach sensorycznych i właściwościach prozdrowotnych.

1. CHARAKTERYSTYKA RYNKU WARZYW W POLSCE

1.1. Rynek produktów spożywczych

W 2015 roku w Polsce nastąpił wzrost PKB o 3,9% w skali roku i był wyższy o 0,6 pkt w porównaniu do roku poprzedniego (2014) i o 2,5 pkt w porównaniu do 2013 roku. Najważniejszym czynnikiem wzrostu gospodarczego w tym okresie był popyt krajowy (m.in. wzrost popytu konsumpcyjnego w gospodarstwach domowych, czyli wielkość wydatków pochodzących z dochodów osobistych) i eksport netto. To właśnie popyt krajowy w 2015 roku przyczynił się do poprawy sytuacji na rynku pracy, gdzie zanotowano stopę bezrobocia 9,7%, niższą niż w roku poprzednim (w 2014 r. wynosiła 11,4%). Z danych GUS wynika, że w 2015 roku wzrósł popyt na żywność, a w następnym roku (2016) nastąpił wzrost spożycia żywności w gospodarstwach domowych o 0,5 pkt i wynosił 1,5%. W 2016 roku wzrost gospodarczy był stabilny, ale niższy niż w minionym roku. Najistotniejszym źródłem wzrostu gospodarczego w 2016 roku nadal był popyt konsumpcyjny spowodowany wzrostem wynagrodzeń na rynku pracy, większą dostępnością kredytów konsumpcyjnych, początkiem wypłat świadczeń z programu „Rodzina 500+" oraz bezpośrednich dopłat dla rolników w programie Wspólnej Polityki Rolnej. Wzrost popytu na żywność został oszacowany w 2016 roku na poziomie 1,5%, natomiast w 2017 roku na 1,0%, przy założeniu mniejszego realnego wzrostu PKB, na poziomie 3,6% w rządowym projekcie ustawy budżetowej na 2017 rok (IERiGŻ-PIB, 2016a).

W 2015 roku w Polsce nastąpiło ożywienie popytu na żywność, które było uwarunkowane głównie trzema czynnikami: spadkiem cen surowców energetycznych i rolnych na rynkach światowych, spadkiem cen detalicznych żywności w Polsce (np. ceny produktów rolnych skupowanych od rolników obniżyły się o 4,9%, w tym spadły ceny warzyw z powodu dużej ich podaży z 2014 roku), będących efektem rosyjskiego embarga na import produktów żywnościowych z krajów Unii Europejskiej. W efekcie spadły ceny krajowych produktów pochodzenia zwierzęcego z jednoczesnym wzrostem produkcji tego asortymentu. Obniżyły się też ceny tłuszczów, ponieważ na rynku światowym spadły ceny olejów spożywczych. Dodatkowo obniżyły się ceny energii i paliw, a to spowodowało m.in. obniżenie się cen

towarów i usług związanych z energią i transportem. Po spadkach cen większości grup produktów spożywczych w 2015 roku nastąpiło ich umocnienie w 2016 roku, a w okresie od stycznia do września 2016 roku zanotowano wzrost cen żywności i napojów bezalkoholowych o 0,7% w porównaniu do tego okresu sprzed roku. Szczególnie wzrosły ceny owoców i warzyw, ryb, produktów zbożowych i cukru (IERiGŻ-PIB, 2016a). Wysoki popyt na żywność w Polsce w 2015 roku przyczynił się do mniej korzystnej sytuacji podażowej w 2016 roku, a tym samym wzrostu cen na żywność krajową. Dodatkowo wzrosły ceny na produkty rolne i żywnościowe na rynkach światowych, co nie pozostaje bez wpływu na kształtowanie się wysokości cen na żywność w naszym kraju.

Ceny żywności na świecie kształtują wysokość cen żywności w Polsce. W 2016 roku nastąpił wzrost światowych oraz unijnych cen żywności, co znalazło odzwierciedlenie na polskim rynku cen artykułów spożywczych. Oprócz tego wzrost cen w 2016 roku na żywność był również spowodowany niższą produkcją surowców rolnych w wyniku suszy, jaka miała miejsce w 2015 roku. Pod koniec 2016 roku zanotowano wzrost cen żywności i napojów bezalkoholowych o około 0,8% w porównaniu do roku ubiegłego. W 2016 roku wydatki w gospodarstwach domowych na żywność i napoje bezalkoholowe zwiększyły się o 3,9% w porównaniu do roku poprzedniego (IERiGŻ-PIB, 2016a). Wysoka podaż warzyw ze zbioru w 2016 roku była powodem niższych cen tych surowców w 2017 roku. W 2017 roku wzrosły ceny żywności i napojów bezalkoholowych o 3% w porównaniu do cen przed rokiem (GUS 2016b; GUS 2017b). Ocenia się, że z jednej strony przyczyną tego był wzrost cen surowców energetycznych na świecie, a z drugiej – prognozowany wzrost gospodarczy w Polsce.

1.2. Struktura spożycia produktów żywnościowych w latach 2010–2017

Z danych zgromadzonych przez GUS wynika, że w ostatnich trzech latach tj. od 2015 do 2017 roku, obniżyło się spożycie produktów zbożowych, ziemniaków, ryb, jaj i cukru. Z kolei tendencję wzrostową stwierdzono w przypadku spożywania owoców, warzyw, mięsa i jego przetworów, tłuszczów roślinnych i zwierzęcych wraz z masłem oraz mleka (IERiGŻ-PIB, 2016a). W porównaniu do 2014 roku, w kolejnych trzech latach, tj. od 2015 do 2017 roku, Polacy spożywali więcej mleka i jego przetworów (o 5,7%), mięsa i jego przetworów (o 2,5%) oraz więcej warzyw (o 1,6%). Znacznie spadło spożycie cukru (o 7,0%) oraz produktów zbożowych (o 3,5%), jaj (o 5,6%) oraz ziemniaków (o 2,0%) (tabela 1).

Tabela 1. Struktura spożycia głównych produktów żywnościowych w latach 2010–2017

Żywność	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017[a]
Produkty zbożowe [kg]	108	108	108	108	106	103	103	102
Owoce [kg]	44,0	42,0	46,0	46,0	47,0	53,0	54,0	54,0
Warzywa [kg]	106	104	103	102	104	105	106	106
Ziemniaki [kg]	110	111	111	102	101	100	97,0	97,0
Mięso i przetwory [kg]	73,7	73,4	71,0	67,5	73,6	75,0	77,6	75,5
Ryby i przetwory [kg]	13,1	12,2	11,7	12,2	13,5	12,5	12,9	12,3
Tłuszcze roślinne [kg]	21,5	21,9	22,2	22,6	23,0	23,4	23,7	24,1
Tłuszcze zwierzęce [kg]	6,3	6,1	6,0	5,1	5,5	5,8	6,1	5,6
Masło [kg]	4,3	4,0	4,1	4,1	4,2	4,5	4,7	4,6
Mleko[b] [l]	189	194	193	206	205	213	222	220
Jaja [szt.]	202	172	140	148	155	144	145	150
Cukier [kg]	39,9	39,4	42,5	41,9	44,3	40,5	42,3	41,0

[a] Prognozy.
[b] Łącznie z mlekiem przeznaczonym na przetwory.

Źródło: Na podstawie: (IERiGŻ-PIB, 2016a; GUS, 2017a, s. 366).

Obecnie trwający mniejszy popyt na produkty zbożowe oraz ziemniaki jest wynikiem poprawy sytuacji ekonomicznej w gospodarstwach domowych oraz świadomego ograniczenia spożycia mąki i pieczywa. Natomiast skutki rosyjskiego embarga (2015 rok) na produkty rolne wraz z ich dobrymi zbiorami w sezonie 2016 roku doprowadziły do niższych cen warzyw i owoców, a w efekcie zwiększenia podaży tych surowców na naszym rynku i wzrostu ich konsumpcji. W 2016 roku wzrosło spożycie produktów mięsnych, mleczarskich, jak również warzyw i owoców. W dalszym ciągu, począwszy od 2015 roku, notuje się mniejszą konsumpcję pieczywa, mąki i produktów zbożowych oraz ryb i ich przetworów, tłuszczów, ziemniaków, jaj i produktów zawierających cukier. W 2016 roku w polskich gospodarstwach domowych więcej wydawano na ogórki, pomidory i warzywa mrożone, tyle samo co w 2015 roku na świeżą i kwaszoną kapustę oraz buraki, ale mniej na ziemniaki, marchew i cebulę.

Istotną zmianą w sposobie żywienia Polaków w 2016 roku było znacznie większe spożycie produktów przetworzonych. Przykładowo Polacy chętniej spożywali przetwory ziemniaczane (m.in. frytki) niż ziemniaki. Ożywienie gospodarcze w 2016 roku przyczyniło się niewątpliwie do wzrostu wydatków konsumentów na żywienie poza domem (IERiGŻ-PIB, 2016a). W strukturze wydatków gospodarstw domowych na artykuły żywnościowe wzrósł udział produktów o lepszych walorach jakościowych i jednocześnie wyższych cenach jednostkowych.

1.3. Znaczenie gospodarcze buraków ćwikłowych

W Polsce buraki ćwikłowe są uprawiane na powierzchni 9,0–10 tys. ha, a ich produkcja wynosi 330–341 tys. ton. Wśród podstawowych krajowych warzyw gruntowych buraki ćwikłowe zajmują pod względem wielkości produkcji czwarte miejsce, za kapustą białą, marchwią i cebulą. W Polsce produkcja buraków ćwikłowych jest prowadzona zarówno metodami konwencjonalnymi, jak i ekologicznymi (Kazimierczak, Hallmann, Treščinska i Rembiałkowska, 2011). Buraki ćwikłowe są tradycyjnym polskim warzywem, wymienianym w strukturze spożycia krajowych warzyw na 6. miejscu, ze średnim rocznym spożyciem buraków 2,7 kg na osobę. Tak duże spożycie buraków ćwikłowych wynika m.in. z faktu, że świeże buraki są dostępne przez cały rok, są surowcem tanim (średnie ceny płacone producentom za świeże buraki ćwikłowe w 2017 roku wahały się od 0,6 do 2,0 zł/kg (MRiRW, 2018) oraz łatwym w uprawie i przechowywaniu. Buraki ćwikłowe przechowywane w odpowiednich warunkach, tj. przy wilgotności względnej powietrza 95–98% i temperaturze 1–2°C, zachowują swe właściwości prozdrowotne i wartość handlową przez 8–9 miesięcy.

Buraki ćwikłowe są źródłem związków bioaktywnych, m.in. barwników betalainowych, związków polifenolowych (Koubaier i in., 2014; Wruss i in., 2015) i saponin triterpenowych (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016). Substancje bioaktywne opóźniają procesy starzenia, zmniejszają ryzyko chorób (Czapski i Górecka, 2014), również chorób cywilizacyjnych (cukrzyca, otyłość, nowotwory złośliwe). Substancje bioaktywne buraka ćwikłowego wykazują szereg korzystnych dla organizmu właściwości, m.in. przeciwzapalne, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciwutleniające (Clifford, Howatson, West i Stevenson, 2015; Gandia-Herrero i in., 2016; Khan i Giridhar, 2015; Kumar i Brooks, 2018; Ravichandran i in., 2013; Sawicki, Bączek i Wiczkowski, 2016; Sheila, Sarah, Priyadarshini, Sivaraj i Arumugam, 2017; Slimen, Najar i Abderrabba, 2017) oraz przeciwnowotworowe (Das, Williams, Das i Kukreja, 2013; Kapadia i in., 2006; Kapadia i in., 2011; Kapadia i in., 2013).

Właściwości prozdrowotne buraka ćwikłowego zależą od poziomu zawartości związków bioaktywnych, takich jak barwniki betalainowe (Sawicki i in., 2016) i związki polifenolowe (Ravichandran, Ahmed, Knorr i Smetanska, 2012).

Działanie antyoksydacyjne saponin triterpenowych buraka ćwikłowego nie zostało opisane w literaturze, poza kilkoma doniesieniami opracowanymi na podstawie badań własnych autorki (Mikołajczyk-Bator, 2015; Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).

Buraki ćwikłowe w przetwórstwie są cennym surowcem do produkcji soków zarówno pasteryzowanych, jak i jednodniowych, koncentratów barszczu otrzymywanych z zagęszczonego soku buraczanego, konserw, marynat, suszu, mrożonek, buraków pakowanych w atmosferze modyfikowanej oraz barwników stosowanych do barwienia

żywności. Krajowy Rejestr (KR) COBORU – Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych (tabela 2) – zawiera obecnie 26 odmian buraka ćwikłowego.

Odmiany korzeni buraka ćwikłowego różnią się nie tylko składem, ale też zawartością związków bioaktywnych, co ma odzwierciedlenie w biologicznych właściwościach tego surowca (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016; Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).

W ostatnich latach preferencje konsumentów co do modelu konsumpcji żywienia uległy zmianie na rzecz większego spożycia produktów roślinnych i mniejszego spożycia produktów pochodzenia zwierzęcego. Na rynku produktów spożywczych pojawia się coraz szerszy asortyment artykułów o właściwościach prozdrowotnych. Do produktów o działaniu prozdrowotnym zalicza się soki i czipsy z buraków ćwikłowych (wysuszone plastry z buraka wyprodukowane przez firmę FPH Paula z Kalisza dzięki wykorzystaniu innowacyjnej technologii suszenia metodą próżniowo-mikrofalową wywołującą efekt „rozdmuchiwania" (puffingu)). Biodostępność betalain z obu produktów jest podobna (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017b; Wiczkowski, Romaszko, Szawara-Nowaka i Piskula, 2018). Świeże soki z buraków wykazują wysokie właściwości przeciwutleniające od 10,2 do 26,3 μmikromola Troloxu /ml, w zależności od odmiany korzeni buraków ćwikłowych z których otrzymano sok (Czapski, Mikołajczyk i Kaczmarek, 2009; Mikołajczyk, 2007). Oprócz świeżych, jednodniowych soków z buraków ćwikłowych na rynku produktów spożywczych dostępne są soki pasteryzowane, wykazujące równie wysokie właściwości przeciwutleniające, jak soki świeżo tłoczone (Mikołajczyk, 2007). W przetwórstwie buraków ćwikłowych stosuje się fermentację mlekową soków buraczanych lub korzeni buraków ćwikłowych, czyli tzw. krajanki. Proces fermentacji mlekowej soków lub buraków może zmieniać profil betalain w końcowym produkcie, który wpływa na właściwości prozdrowotne soków. Proces fermentacji powoduje obniżenie zdolności przeciwutleniającej soków buraczanych o około 3%, ponieważ dochodzi do częściowej degradacji barwników fioletowych (betacyjanin) (Klewicka, Laskowska i Libudzisz, 2005). Zarówno aktywność enzymatyczna bakterii w procesie fermentacji, jak i obniżenie pH do 4,0–4,5 wpływają na zmiany struktur większości barwników betalainowych. Zastosowanie odpowiednich kultur starterowych i odmian korzeni buraka ćwikłowego w procesach fermentacyjnych pozwala na zachowanie większości (75%) barwników betalainowych w gotowym produkcie (Czyżowska, Klewicka i Libudzisz, 2006; Rakin, Vukasinovis, Marinkovic i Maksimovic, 2007). W porównaniu do soków świeżych w sokach buraczanych poddanych procesowi fermentacji mlekowej, oprócz głównych barwników buraka ćwikłowego, tj. betaniny i izobetaniny, występują dodatkowo ich aglikony, które pojawiają się w produktach fermentowanych na skutek oderwania się części cukrowej (glukozy) od betaniny i izobetaniny. Skład ilościowy barwników betalainowych w produktach z buraków ćwikłowych poddanych fermentacji mlekowej zależy od odmiany korzeni buraka i użytych kultur starterowych (Czyżowska i in., 2006).

Tabela 2. Odmiany buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. wpisane do Krajowego Rejestru (KR) COBORU

Nazwa odmiany	Data wpisu	Data wygaśnięcia	Zgłaszający
Astor	15.02.2002	31.12.2022	Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze POLAN sp. z o.o.
Betako	20.01.2012	31.12.2022	PlantiCo Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze Zielonki sp. z o.o.
Bonel[a]	23.02.2016	31.12.2026	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Borus	16.01.2008	31.12.2018	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Ceryl	23.01.2003	31.12.2023	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Chrobry[a]	10.04.1991	01.11.2020	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Czerwona Kula 2	13.07.1961	01.11.2020	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Forono[a]	23.02.2016	31.12.2026	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Jawor	27.01.2011	31.12.2021	Hodowla Roślin Snowidza sp. z o.o.
Karmazyn	28.01.2004	31.12.2024	PlantiCo Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze Zielonki sp. z o.o.
Kier	20.01.2012	31.12.2022	Hodowla Roślin Snowidza sp. z o.o.
Napoleon	23.01.2003	31.12.2023	Hortag Seed Co.
Nelson	27.01.2011	31.12.2021	Hortag Seed Co.
Nestor	20.01.2012	31.12.2022	Vera-Agra sp. z o.o.
Nochowski[a]	10.04.1991	01.11.2020	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Okrągły Ciemnocz.	01.01.1955	01.11.2020	Hodowla Roślin Snowidza sp. z o.o.
Opolski[a]	30.03.1993	01.11.2020	PlantiCo Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze Zielonki sp. z o.o.
Patryk	16.01.1998	01.11.2020	Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze POLAN sp. z o.o.
Polglob	15.03.1994	01.11.2020	Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze POLAN sp. z o.o.
Regulski Cylinder	23.01.2003	31.12.2023	Przedsiębiorstwo Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa w Ożarowie Mazowieckim Spółka z o.o.
Roy	09.01.2007	31.12.2027	Hortag Seed Co.
Rubens	21.01.2013	31.12.2023	AdvanSeed ApS
Rywal[a]	25.03.1995	01.11.2020	Krakowska Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze POLAN sp. z o.o.
Śnieżna Kula	30.01.2014	31.12.2024	Torseed Przedsiębiorstwo Nasiennictwa Ogrodniczego i Szkółkarstwa S.A.
Turkus	16.01.2009	31.12.2019	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.
Tytus[a]	09.01.2007	31.12.2027	SPÓJNIA Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze sp. z o.o.

[a] Odmiany badane w niniejszej pracy.

Źródło: Na podstawie informacji Centralnego Ośrodka Badania Odmian Roślin Uprawnych: (http://www.coboru.pl/Polska/Rejestr/odm_w_rej.aspx?kodgatunku=BCW).

W ostatniej dekadzie wzrosło zapotrzebowanie wśród konsumentów na żywność funkcjonalną, żywność wygodną, która jest łatwo dostępna oraz umożliwia szybkie przygotowanie posiłku. Na rynku przetworów warzywnych spośród produktów żywności wygodnej i funkcjonalnej dostępne są ugotowane w całości, a następnie obrane i zapakowane w próżni korzenie buraków ćwikłowych oraz buraki ćwikłowe niskoprzetworzone pakowane w atmosferze modyfikowanej. Produkty te wykazują wysokie właściwości przeciwutleniające od 9,29 do 13,62 μM Troloxu/g produktu, w zależności od odmiany korzeni buraka ćwikłowego, jak i sposobu pakowania, przy czym nie wykazano istotnych różnic pomiędzy burakami mało przetworzonymi pakowanymi w atmosferze modyfikowanej o składzie 10% CO_2, 90% N_2 oraz w próżni (Mikołajczyk, 2007).

1.4. Plony, zbiory i przetwórstwo warzyw w Polsce

Tendencja spadkowa w produkcji warzyw ogółem (warzyw gruntowych i spod osłon) dość mocno zaznaczyła się w 2015 roku, gdyż zbiory warzyw ogółem były o 17% mniejsze niż w 2014 roku. W latach 2016 i 2017 w dalszym ciągu utrzymywała się tendencja spadkowa w produkcji warzyw ogółem, w 2016 roku zbiory warzyw były mniejsze o 17%, a w 2017 roku o 14% w porównaniu do 2014 roku. Najbardziej obniżyła się produkcja kapusty białej (o 24%) i kalafiorów (o 21%), mniejsze były też zbiory marchwi (o 17,6%), ogórków (o 17,3%), buraków ćwikłowych (o 17%), cebuli (o 15,7%) i pomidorów (o 13%) (IERiGŻ-PIB, 2016b; 2017a).

W sezonie 2016–2017 produkcja przetworów z warzyw w naszym kraju wynosiła 1245 tys. ton i zwiększyła się o 4% w porównaniu do sezonu poprzedniego (1195 tys. ton). Spośród przetworów warzywnych znacznie zwiększyła się produkcja warzyw mrożonych, z 620 tys. ton do 650 tys. ton. Warzywa mrożone stanowiły 52% w strukturze ogólnej produkcji przetworów warzywnych, następnie można wymienić konserwy i marynaty (26%) oraz przetwory pomidorowe (21%). Najmniejszy udział w strukturze produkcji przetworów warzywnych stanowią susze warzywne (około 6%) – z powodu konkurencyjnych cen suszy importowanych z krajów pozaeuropejskich do Polski. W produkcji warzyw mrożonych eksportowanych do krajów Unii Europejskiej Polska zajmuje drugie miejsce, po Belgii (IERiGŻ-PIB, 2017a).

Produkcja buraków ćwikłowych w Polsce wzrosła o około 15% w 2016 i o 11% w 2017 roku w porównaniu z 2015 rokiem. Niższe zbiory buraków ćwikłowych w 2015 roku były spowodowane głównie niesprzyjającymi warunkami pogodowymi, suszą oraz rosyjskim embargiem na import warzyw z krajów Unii Europejskiej, w tym z Polski. W 2015 roku zbiory buraków ćwikłowych wynosiły 297 tys. ton,

a w 2016 roku 341,1 tys. ton i były większe o 14,9% w porównaniu do 2015 roku. Natomiast w 2017 roku zbiory buraków były mniejsze i wynosiły 330 tys. ton. W 2017 roku powierzchnia uprawy prawie wszystkich gatunków warzyw gruntowych była mniejsza niż w 2016 roku. Wynikało to z niskich cen skupu warzyw gruntowych w sezonie 2016/2017 (tabela 3) (IERiGŻ-PIB, 2017b).

Tabela 3. Powierzchnia uprawy i zbiorów w Polsce w latach 2014–2017

Wyszczególnienie	Powierzchnia uprawy [tys. ha]				Zbiory [tys. ton]			
	2014	2015	2016	2017[a]	2014	2015	2016	2017
Warzywa gruntowe, w tym:	**172,4**	**175,5**	**178,4**	**177,8**	**4639,0**	**3792,8**	**4547,3**	**4505,0**
buraki ćwikłowe	11,1	10,9	9,9	9,0	357,8	297,0	341,1	330,0
cebula	24,7	25,0	26,5	25,0	651,1	548,4	651,3	655,0
kalafiory	9,9	10,3	8,9	8,9	245,6	194,6	240,3	235,0
kapusta biała	23,9	23,5	20,1	18,9	975,4	1156,4	1017,7	1000,0
marchew	22,4	22,1	22,3	21,0	822,6	677,7	822,0	810,0
ogórki	15,3	15,0	13,7	11,0	266,9	220,6	261,2	245,0
pomidory	10,3	10,6	9,1	9,0	271,9	236,4	260,4	250,0
inne warzywa[b]	54,8	58,1	67,9	75,0	866,7	743,1	953,2	980,0
Warzywa spod osłon, w tym:	**3400,0**	**3215,6**	**3307,4**	**3300,0**	**803,8**	**819,9**	**883,5**	**865,0**
pomidory	2170,9	2046,5	2179,6	2200,0	538,7	553,2	606,6	600,0
ogórki	1229,1	1169,1	1127,8	1100,0	265,1	266,7	276,9	265,0

[a] Prognozy.
[b] Głównie: kukurydza, papryka, pietruszka, pory, sałata, selery, szparagi, warzywa strączkowe.

Źródło: Na podstawie: (IERiGŻ-PIB, 2017b; GUS, 2017a, s. 194, 196).

1.5. Konsumpcja i ceny warzyw

W Polsce ceny detaliczne warzyw i ich przetworów są kształtowane wielkością produkcji surowców w roku poprzednim (podaż warzyw), ich popytem w danym roku, warunkami klimatycznymi, sytuacją handlu międzynarodowego (eksport, import) oraz cenami warzyw na świecie.

W 2013 roku powierzchnia upraw buraka ćwikłowego wyniosła 8,6 tys. ha, a łączne zbiory – 298,2 tys. ton (GUS, 2015, s. 176, 178). Według informacji IERiGŻ (Instytut Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej – Państwowy Instytut Badawczy) średnia cena skupu buraków przeznaczonych do konsumpcji bezpośredniej w lipcu 2013 roku kształtowała się na poziomie 1,45 zł/kg, natomiast rok 2014 nie był tak korzystny, gdyż cena spadła o połowę (0,77 zł/kg) (http://

www.sadyogrody.pl/warzywa/102/wzrasta_zapotrzebowanie_na_buraki_cwiklowe_sprawdz_jak_je_uprawiac,619.html). Zbiory buraków ćwikłowych w 2014 roku wynosiły 358 tys. ton, a powierzchnia uprawy 11 tys. ha (GUS, 2015, s. 176, 178).

W latach 2015 i 2016 powierzchnia upraw i zbiorów buraka ćwikłowego wzrosła i wynosiła odpowiednio 10,9 i 9,9 tys. ha (uprawy) i 297 i 341 tys. ton (zbiory) (GUS, 2017a, s. 194, 196). W 2016 roku, z powodu znacznie większych zbiorów buraków ćwikłowych niż w roku poprzednim, ich cena skupu obniżyła się o niemal 27% (z 0,75 do 0,55 zł/kg) w porównaniu do 2015 roku.

W 2015 roku ceny żywności i napojów bezalkoholowych spady o 1,7% w porównaniu do 2014 roku, ale ceny warzyw zarówno świeżych, jak i chłodzonych wzrosły o około 3,4%, spadły natomiast ceny przetworów o 1,2% i mrożonych warzyw i grzybów o 0,2%. Z powodu mniejszej podaży warzyw w 2015 roku ich ceny wzrosły. Niestety, w 2015 roku warunki pogodowe nie były sprzyjające dla uprawy warzyw gruntowych, a długotrwała susza w okresie wegetacji była przyczyną mniejszych ich zbiorów o ponad 18% w porównaniu z rokiem poprzednim. Spośród warzyw korzeniowych najbardziej wzrosła cena marchwi (o 58,9%), ponieważ z powodu jej niedoboru pod koniec sezonu w czerwcu nastąpił wzrost importu tego surowca, następnie kapusty (o 50,6%), buraków (o 41,1%) i cebuli (o 22,2%). Ceny ogórków, warzyw kalafiorowatych oraz pomidorów spadły odpowiednio o 35,7, 20,4 i 5,4% (tabela 4) (IERiGŻ-PIB). W 2016 roku, wraz z większymi zbiorami marchwi (o 16%), kapusty (o 17,1%) i ogórków (o 19,2%), ich ceny spadły odpowiednio o około 26, 24 i 23%. W mniejszym stopniu spadły ceny buraków (o 6,2%), warzyw kalafiorowatych (o 6,5%), pomidorów (o 0,1%) i cebuli (o 3,0%). Rok 2016 był sprzyjający pod względem warunków klimatycznych uprawy warzyw, dodatkowo utrzymujące się rosyjskie embargo na eksport warzyw z Polski spowodowało zwiększenie podaży warzyw w naszym kraju i obniżenie większości ich cen detalicznych, z wyjątkiem buraków ćwikłowych, kapusty białej i ziemniaków. Ceny detaliczne tych warzyw wzrosły: buraków ćwikłowych z 1,70 zł/kg w 2015 roku do 1,84 zł/kg w 2016 roku, kapusty białej z 1,64 zł/kg w 2015 roku do 1,70 zł/kg w 2016 roku i ziemniaków z 1,12 zł/kg w 2015 roku do 1,27 zł/kg (GUS, 2017a, s. 327).

Obniżenie cen detalicznych wielu warzyw (np. marchwi, fasoli, pietruszki) spowodowało spadek opłacalności ich produkcji, a w 2017 roku skutkowało to zmniejszeniem powierzchni uprawy warzyw i wzrostem ich cen skupu.

W sezonie 2017–2018 ceny skupu warzyw były wyższe niż w sezonie poprzednim. Szczególnie wzrosły ceny skupu warzyw świeżych. Przykładowo, ceny buraków ćwikłowych wzrosły o niemal 40%, kapusty białej o 25%, cebuli o 40%, a marchwi o 31%. Natomiast cena buraków ćwikłowych przeznaczonych do przetwórstwa nie zmieniła się, a pozostałych warzyw ceny wzrosły od około 2% do 35% (tabela 4) (IERiGŻ-PIB, 2017b; 2018). Wysoki wzrost cen skupu większości warzyw świeżych pochodzących z gruntu jest wynikiem mniejszej podaży surowców spełniających kryteria jakości handlowej.

Tabela 4. Ceny skupu warzyw spożywanych w największej ilości w Polsce (zł/kg)

Rodzaj warzyw	2013/2014	2014/2015	2015/2016	2016/2017	2017/2018
Warzywa świeże					
Buraki ćwikłowe	0,80	0,55	0,75	0,55	0,91
Cebula	1,20	0,70	1,00	0,50	0,83
Kapusta biała	0,70	0,40	0,88	0,40	0,54
Marchew	0,80	0,90	1,20	0,60	0,87
Ogórki	1,20	2,40	2,30	1,54	1,74
Pomidory	1,50	1,20	1,05	1,00	1,10
Warzywa do przetwórstwa					
Buraki ćwikłowe	0,35	0,30	0,47	0,30	0,30
Cebula obrana	1,40	1,00	1,26	0,60	0,93
Kapusta biała	0,80	0,40	0,83	0,30	0,39
Marchew	0,35	0,30	0,35	0,25	0,28
Ogórki-kwaszenie	1,02	0,53	1,00	0,90	1,10
Ogórki – konserwowanie	1,91	1,60	2,15	1,60	1,84
Pomidory-tłoczenie	0,35	0,33	0,35	0,30	0,39
Pomidory-mrożenie	0,59	0,60	0,65	0,58	0,59

Źródło: Na podstawie: (IERiGŻ-PIB, 2017a; 2017b; IERiGŻ-PIB, 2018).

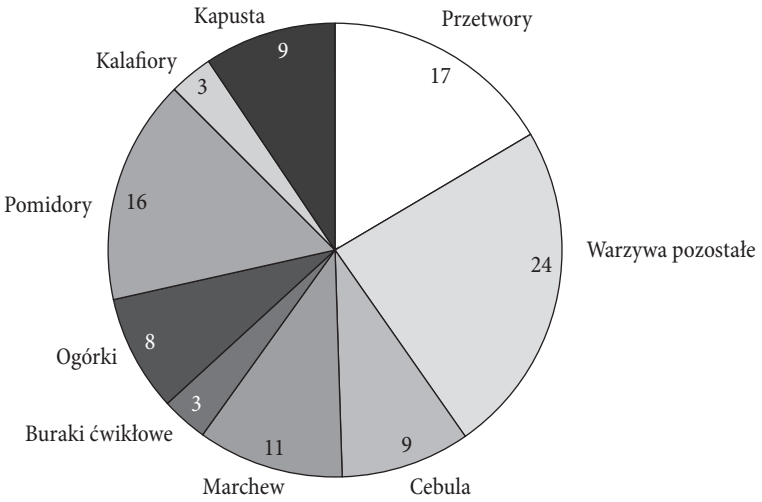
W 2015 roku bilansowa konsumpcja warzyw wynosiła 105 kg na mieszkańca, a w 2014 roku 104 kg. Z danych GUS wynika, że w 2015 roku Polacy konsumowali miesięcznie mniej warzyw i ich przetworów wraz z grzybami – o 1,8% niż w roku 2014, i mniej o 12% w 2016 roku w porównaniu do 2015 roku. W przeliczeniu na osobę miesięczne spożycie warzyw i ich przetworów łącznie z grzybami świeżymi wynosiło 4,91, 4,82 i 4,24 kg odpowiednio w 2014, 2015 i 2016 roku. W latach 2012–2014 średnie roczne spożycie na osobę buraków ćwikłowych wynosiło 2,71 kg, co klasyfikuje buraki ćwikłowe na 6. miejscu pod względem wielkości konsumpcji warzyw w naszym kraju. Polacy w tym okresie więcej konsumowali pomidorów (średnio 9,86 kg/osobę/rok), ogórków (6,79 kg kg/osobę/rok), kapusty (6,28 kg/osobę/rok), marchwi (6,19 kg/osobę/rok), cebuli (5,76 kg/osobę/rok) (ARR, 2015a). W 2015 roku mniejsza była konsumpcja podstawowych, krajowych grup warzyw świeżych, tj. kapusty, cebuli, marchwi, ogórków, kalafiorów i brokułów oraz buraków ćwikłowych, z wyjątkiem pomidorów. Polacy w tym okresie więcej spożyli warzyw mrożonych (o 7,1%) oraz przetworów warzywnych (o 3,0%). Tendencja taka utrzymała się w 2016 roku, kiedy to znacznie spadło spożycie świeżych warzyw łącznie z pomidorami na rzecz mrożonek warzywnych oraz przetworów warzywnych.

Z danych GUS dotyczących budżetów gospodarstw domowych wynika, że konsumpcja warzyw ogółem w 2015 roku w porównaniu z 2014 rokiem obniżyła się w każdej grupie społeczno-ekonomicznej, a największy spadek konsumpcji

warzyw nastąpił w gospodarstwach rolników (o 4,7%) i osób pracujących na własny rachunek (o 3,5%), a najmniejszy w gospodarstwach pracowników (o 1,1%) oraz emerytów i rencistów (o 0,9%) (GUS, 2016a, s. 226; IERiGŻ-PIB, 2016a). W 2016 roku konsumpcja warzyw ogółem zwiększyła się o 1,9% w porównaniu z rokiem poprzednim. Do warzyw ogółem zaliczono warzywa świeże, przetworzone oraz chłodzone i mrożone, z wyłączeniem ziemniaków i ich przetworów. Największy wzrost konsumpcji odnotowano w gospodarstwach rolników (o 3,8%) i gospodarstwach osób pracujących na własny rachunek (o 3,0%), następnie w gospodarstwach pracowników (o 1,9%), a najmniejszy w gospodarstwach emerytów i rencistów (o niecałe 0,4%).

W 2016 roku w strukturze konsumpcji warzyw świeżych buraki ćwikłowe wymienia się na 6. miejscu (rysunek 1). Polacy najchętniej konsumowali pomidory 16%, marchew 10,4%, kapustę 9,4%, cebulę 9,2%, ogórki 8,3%, buraki 3,3% oraz kalafiory i brokuły 3,1%. Z kolei przetwory warzywne i mrożonki stanowiły prawie 21% całkowitego spożycia.

Nominalne wydatki w gospodarstwach domowych przeznaczanych przez Polaków na warzywa i ich przetwory w pierwszej połowie 2016 roku wynosiły 22,06 zł na miesiąc, przeliczając na jedną osobę (21,66 z/miesiąc w pierwszej połowie 2015 roku). Wydatki Polaków na warzywa i ich przetwory stanowiły 2,23% w całkowitych wydatkach gospodarstw domowych i 9,03% w strukturze wydatków na żywność i napoje bezalkoholowe. Więcej niż na warzywa Polacy wydawali na mięso, przetwory zbożowe oraz nabiał (IERiGŻ-PIB, 2016a).



Rysunek 1. Struktura konsumpcji warzyw i ich przetworów w I półroczu 2016 roku [%]

Źródło: Na podstawie: (IERiGŻ-PIB, 2016a).

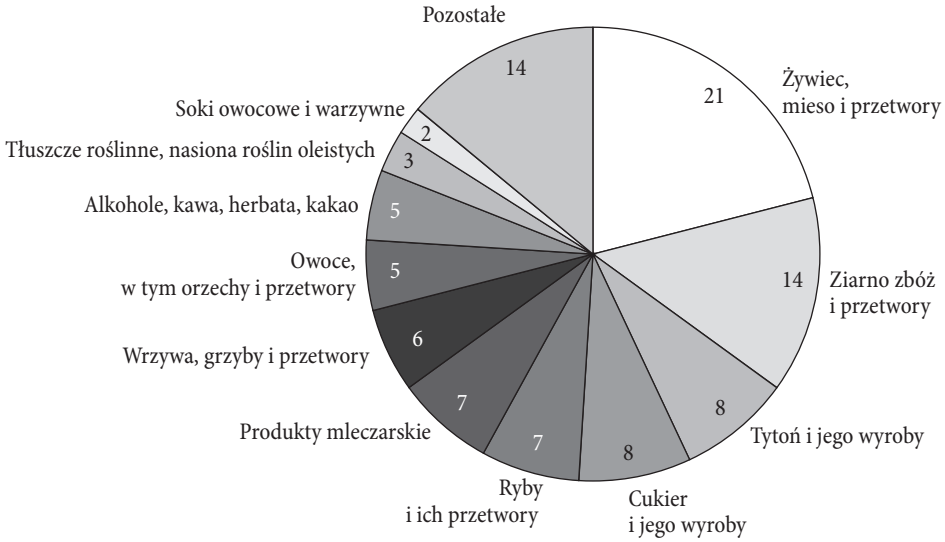
W 2016 roku ceny skupu niemal wszystkich warzyw, w tym buraków ćwikłowych, były relatywnie mniejsze niż w 2015 roku. W sezonie 2016/17 ceny skupu świeżych buraków ćwikłowych obniżyły się o 26,6%, natomiast ceny skupu buraków ćwikłowych z przeznaczeniem do przetwórstwa obniżyły się o 36,2% w porównaniu z sezonem poprzednim 2015/2016 (tabela 4) (IERiGŻ-PIB, 2017a).

W sezonie 2016/17 spadła opłacalność produkcji większości warzyw gruntowych, w tym warzyw korzeniowych. Skutkiem tego było zmniejszenie powierzchni uprawy wielu warzyw w roku następnym (2017), w tym buraków ćwikłowych o 9% .

1.6. Struktura produktów rolno-spożywczych w handlu zagranicznym

Od momentu przystąpienia Polski do Unii Europejskiej w 2004 roku zwiększyła się dynamika handlu zagranicznego produktami rolno-spożywczymi. Towary rolno-spożywcze produkowane w naszym kraju eksportowano głównie na rynki Unii Europejskiej (81%), natomiast tylko 5% z nich sprzedawano do krajów Wspólnoty Niepodległych Państw (WSP) oraz 14% do pozostałych krajów spoza Unii Europejskiej. W 2004 roku wartość eksportu produktów rolno-spożywczych do krajów Unii Europejskiej, WSP i pozostałych krajów wynosiła 5,2 mld EUR, natomiast w 2016 roku wzrosła do 24,2 mld EUR, w tym wartość eksportu produktów rolno-spożywczych tylko na rynek unijny wyniosła 19,7 mld EUR w 2016 roku (ARR, 2017). Głównym krajem, do którego Polska eksportuje produkty rolno-spożywcze, są Niemcy, a udział polskiego eksportu do tego kraju wynosi 23%, co stanowiło 5,5 mld EUR wartości eksportu w 2016 roku. Drugim znaczącym partnerem handlowym Polski jest Wielka Brytania (udział polskiego eksportu wynosi 9%), następnie Czechy (7%), Holandia (6%), Włochy i Francja (po 5%), Słowacja i Węgry (po 3%), Hiszpania, Rumunia, Litwa, Dania i Belgia (po 2%) i pozostałe kraje unijne o łącznym udziale w polskim eksporcie 10%. Spośród polskich towarów rolno-spożywczych najwięcej eksportuje się z naszego kraju żywca, mięsa i ich przetworów (21%) oraz zbóż i ich przetworów (14%), warzywa i grzyby wraz z ich przetworami stanowią 6% polskiego eksportu (rysunek 2). W 2016 roku wartość eksportu warzyw wynosiła 1,4 mld EUR i była wyższa o 4% niż w roku poprzednim. Z Polski eksportuje się zarówno warzywa świeże, jak i przetwory. Na rozwój polskiego warzywnictwa wpływają niskie koszty pracy, rosnący popyt na krajowe warzywa z uwagi na ich wysoką jakość, dobrze rozwinięty w naszym kraju przemysł przetwórczy oraz korzystne położenie geograficzne. Powierzchnia uprawy warzyw gruntowych w latach 2014–2017 w Polsce wynosiła od 174,2 tys. ton (w 2014 roku) do około 178 tys. ton (w 2017 roku) i wykazuje

tendencję wzrostową, przy czym warzywa gruntowe są uprawiane przez około 90 tys. gospodarstw rolnych na teranie całego kraju, a warzywa spod osłon – przez 12 tys. gospodarstw polskich. W Polsce produkcja warzyw na eksport skupia się głównie w pięciu województwach: małopolskim, mazowieckim, łódzkim, kujawsko-pomorskim i wielkopolskim (ARR, 2017). Z powodu uprawy większości warzyw gruntowych w okresie sezonowym coraz więcej gospodarstw zajmuje się uprawą warzyw spod osłon, dostępnych dla konsumentów przez cały rok. Od 2011 roku, ze względów ekonomicznych, wzrasta uprawa warzyw w tunelach foliowych, bowiem zużycie energii i koszty ich budowy są znacznie niższe niż szklarni (ARR, 2015b). Krajowa produkcja warzyw ogółem (gruntowych i spod osłon) w 2016 roku wynosiła 5610 tys. ton, co plasuje nasz kraj na czwartym miejscu w produkcji warzyw w Unii Europejskiej. W latach 2013–2017 roczna krajowa produkcja warzyw gruntowych wynosiła od 4 do 4,6 tys. ton. Polska jest unijnym liderem w produkcji marchwi i buraków ćwikłowych, a drugie miejsce, za Rumunią, zajmuje w produkcji kapusty (ARR, 2017). W Europie roczne spożycie buraków ćwikłowych szacuje się na poziomie 8,2 kg na mieszkańca (Roemmelt i in., 2014).



Rysunek 2. Procentowy udział produktów rolno-spożywczych eksportowanych z Polski o łącznej wartości 24, 2 mld EUR (2016 rok) [%]

Źródło: Na podstawie: (ARR, 2017).

Polska jest importerem głównie takich warzyw, jak pomidory, papryka, ogórki i cebula. Do kraju są przywożone zarówno warzywa świeże, jak i z przeznaczeniem do przetwórstwa. Wysokość importu warzyw do Polski jest kształtowana cenami

skupu krajowych warzyw oraz cenami warzyw na rynkach światowych, zależy też od krajowej podaży, która się wiąże z wysokością produkcji warzyw. Wartość importu produktów rolno-spożywczych do Polski w 2016 roku wynosiła 17,1 mld EUR. Produkty rolno-spożywcze są przywożone do Polski głównie z krajów Unii Europejskiej (w 82%), krajów Wspólnoty Niepodległych Państw (4%) oraz pozostałych krajów (14%). W strukturze produktów rolno-spożywczych importowanych do Polski w 2016 roku warzywa i grzyby wraz z ich przetworami stanowiły 5%, soki owocowe i warzywne 1%, owoce, orzechy i ich przetwory 10%, produkty mleczarskie 5%, tłuszcze roślinne i nasiona roślin oleistych oraz ziarna zbóż i przetwory – po 7%, ryby i przetwory oraz alkohole, kawa i herbata po 11%. Najwięcej importowano produktów mięsnych, które łącznie z ich przetworami oraz żywcem stanowiły 13% (ARR, 2017).

1.7. Handel zagraniczny warzyw

W strukturze towarów rolno-spożywczych eksport warzyw i ich przetworów wraz z grzybami stanowi 6%, soki owocowe i warzywne stanowią 2%, poza tym mniejszy udział w eksporcie produktów rolno-spożywczych zajmują owoce i ich przetwory (5%), alkohole, kawa i herbata (5%), tłuszcze roślinne (3%), a większy żywiec, mięso i jego przetwory (21%), ziarna zbóż i ich przetwory (14%), cukier i jego przetwory (8%), ryby i przetwory rybne oraz produkty mleczarskie po 7% (ARR, 2017).

W sezonie 2016–2017 eksport warzyw świeżych do krajów Unii Europejskiej zwiększył się o 11% i wynosił 490 tys. ton, wobec sezonu poprzedniego 2015–2016, w którym wynosił 439,7 tys. ton. Wzrost eksportu był spowodowany głównie większym wywozem warzyw korzeniowych – marchwi i buraków ćwikłowych, ponadto papryki, warzyw kapustnych, ogórków i cebuli. W sezonie 2015–2016 eksport buraków ćwikłowych wraz innymi warzywami korzeniowymi wynosił 20,6 tys. ton, a w sezonie następnym (2016–2017) wzrósł do 30 tys. ton. Podobnie było w przypadku większości warzyw polskich, przykładowo eksport marchwi wzrósł z 19,6 tys. ton w sezonie 2015–2016 do 32 tys. ton w sezonie 2016–2017, papryki (16,2 tys. ton w 2015–2016 do 21 tys. ton w 2016–2017), warzyw kapustnych (83 tys. ton w 2015–2016 do 102 tys. ton w 2016–2017) (IERiGŻ-PIB, 2017a). W 2015 roku Polska zajmowała czwarte miejsce w produkcji warzyw w Unii Europejskiej, a krajami przodującymi były Włochy, Hiszpania i Francja (ARR, 2015a). Polska jest znaczącym eksporterem warzyw świeżych – głównie do Niemczech, Hiszpanii, Wielkiej Brytanii, Francji, Czech oraz Holandii, i mrożonych – głównie do krajów Unii Europejskiej, krajów Bliskiego Wschodu, w tym Arabii Saudyjskiej oraz do

Stanów Zjednoczonych i Kanady (ARR, 2015a; 2017). Dochód ze sprzedaży warzyw i ich przetworów na rynki krajów Unii Europejskiej w 2016 roku wynosił 81% wartości eksportu. Łącznie wyeksportowano 1,3 mln ton warzyw i ich przetworów (o wartości 1,2 mld EUR) (ARR, 2017). Pomimo większej sprzedaży zagranicznej warzyw w sezonie 2016–2017 ich wpływy na polskim rynku nie wzrosły z uwagi na większą ich podaż w sezonie 2016–2017, która to przyczyniła się do obniżenia cen eksportowanych niemalże wszystkich warzyw.

Udział poszczególnych warzyw i ich przetworów w polskim eksporcie w ostatnich kilku latach nie uległ znacznym zmianom, niemniej jednak za największe ograniczenie w eksporcie polskich warzyw można wymienić niewątpliwie nałożenie embarga na sprzedaż do Federacji Rosyjskiej w 2014 roku. W strukturze polskiego eksportu w sezonie 2016–2017 największy udział miały mrożonki (30%), świeże warzywa (21%), marynaty i konserwy (13%), pomidory i susze (po 9%) oraz cebula (7%). Pozostałe przetwory warzywne stanowiły 14% w strukturze warzyw eksportowanych. Spośród świeżych warzyw największy udział w eksporcie zajmuje marchew 63% oraz buraki ćwikłowe wraz pozostałymi warzywami korzeniowymi 46%, z innych warzyw w czołówce eksportu wymienia się kapustę białą i czerwoną 41%, paprykę 30% oraz ogórki 15%. Jednocześnie obniżył się o 9% polski eksport świeżych pomidorów. Z mrożonych warzyw w czołówce polskiego eksportu znajdują się warzywa strączkowe, marchew, cebula, kukurydza oraz papryka.

W latach 2013–2017 przywóz warzyw do Polski z rynków zagranicznych wahał się od 503,4 do 532,6 tys. ton. W strukturze warzyw importowanych największy udział zajmują świeże warzywa (33%), pomidory (23%), przetwory pomidorowe (11%), papryka (11%), marynaty i konserwy (10%), susze (6%) oraz pozostałe przetwory (6%) (IERiGŻ-PIB, 2017a). Na wysokość importowanych warzyw wpływają warunki pogodowe, które kształtują wysokość produkcji krajowych warzyw i ich ceny. W sezonie 2016–2017 nastąpił wzrost produkcji wszystkich warzyw na naszym kraju, jak również wzrost cen importowanych warzyw, co istotnie przyczyniło się od spadku importu warzyw z rynków zagranicznych (o 11,6%) i wynosiło 505 tys. ton, wobec sezonu poprzedniego, gdy import warzyw wynosił 571,2 tys. ton. Do Polski w największych ilościach są importowane świeże pomidory, ogórki, sałaty, a z warzyw mrożonych szpinak, warzywa strączkowe, kalafiory i brokuły, z konserw natomiast kukurydza, ogórki i oliwki. Największym importerem ogórków konserwowych do Polski są Indie, koncentratu pomidorowego – Ukraina (sezon 2016–2017 30%), ponadto do Polski są importowane warzywa z krajów Unii Europejskiej, w tym głównie z Grecji, Hiszpanii, Portugalii oraz Włoch. Sprzyjające w naszym kraju warunki pogodowe do uprawy buraków ćwikłowych powodują ich dobrą podaż na naszym rynku, bez konieczności sprowadzania tego surowca z rynków zagranicznych.

2. SUROWIEC ROŚLINNY JAKO ŹRÓDŁO METABOLITÓW WTÓRNYCH WPŁYWAJĄCYCH NA JAKOŚĆ PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

2.1. Klasyfikacja metabolitów w surowcu roślinnym

W roślinach występuje pierwotny (podstawowy) i wtórny metabolizm. Metabolizm podstawowy dotyczy takich substancji, jak: węglowodany, tłuszcze, białka oraz kwasy nukleinowe, które są niezbędne do podtrzymywania funkcji wegetatywnych roślin, szczególnie intensywności oddychania, podziału komórkowego roślin i ich wzrostu czy odkładania materiału zapasowego oraz reprodukcji.

Metabolizm wtórny dotyczy pozostałych substancji w roślinach, a mianowicie takich, które na ogół służą roślinie do przetrwania w środowisku i obrony, szczególnie przed patogenami, roślinożercami, niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi, jak susza czy zasolenie, promieniowanie UV, oraz skażeniami, związanymi np. z obecnością metali ciężkich w glebie. Niektóre metabolity wtórne roślin pozwalają na wabienie owadów. Metabolity te charakteryzują się dużą różnorodnością struktur chemicznych. Zalicza się do nich alkaloidy, fenylopropanoidy, glukozynolany, glikozydy cyjanogenne, chinony, kumaryny, taniny, terpenoidy, poliketydy (Oleszek, 2009). Ze względu na dużą różnorodność struktur metabolity wtórne zostały podzielone na trzy główne klasy: związki azotowe (alkaloidy, aminy, aminokwasy niebiałkowe, glikozydy cyjanogenne, glukozynolany), terpenoidy (monoterpeny, laktony seskwiterpenowe, diterpenoidy, saponiny, limonoidy) i związki fenolowe (monofenole, flawonoidy, chinony). Wtórne metabolity obecne w żywności pochodzenia roślinnego są często określane jako naturalne substancje nieodżywcze, fitochemiczne lub związki bioaktywne (Troszyńska, 2004). Są one nazywane substancjami swoistymi roślin. Zdolność biosyntezy metabolitów wtórnych przez rośliny jest procesem specyficznym dla poszczególnych gatunków roślin. Wiele metabolitów wtórnych jest zaliczanych do związków aktywnych biologicznie, pełniących różnorakie funkcje w roślinie, np. wpływają na odporność rośliny na infekcje wywoływane mikroorganizmami patogennymi. Wiele z poznanych dotąd

substancji roślinnych będących metabolitami wtórnymi wykazuje prozdrowotne, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, antynowotworowe działanie na organizm człowieka.

Zarówno metabolizm podstawowy, jak i wtórny są ze sobą powiązane, ponieważ związki otrzymywane z metabolizmu podstawowego są substancjami wyjściowymi w syntezie metabolitów wtórnych (Oleszek, 2009). Po raz pierwszy termin związków pierwotnych i wtórnych został wprowadzony w 1891 roku przez Kessela (Kasprzyk, 1985). Szacuje się, że obecnie znanych i opisanych jest około 200–300 tysięcy różnych roślinnych metabolitów wtórnych. Jak podaje Oleszek, na Ziemi występuje około 300 000 różnych gatunków roślin, z czego niespełna 1%, a więc mniej niż 3000, jest wykorzystywanych w żywności (Oleszek, 2009). Wraz z rozwojem coraz to doskonalszych technik separacyjnych i opracowywaniem nowych metod izolacji metabolitów wtórnych możliwe było w ostatniej dekadzie otrzymanie wielu nowych informacji dotyczących wcześniej nieodkrytych wtórnych metabolitów roślin. Z całą pewnością liczba metabolitów wtórnych pozostałych do odkrycia jest nadal bardzo duża.

2.2. Rola metabolitów wtórnych w surowcu

Wiele z występujących w roślinach metabolitów wtórnych to związki biologicznie czynne. Aktywność biologiczną wykazują tylko takie substancje, które w procesie trawienia i wchłaniania są transportowane do krwi i limfy (Czapski i Górecka, 2014). Związki bioaktywne zawarte w roślinach wpływają korzystnie na zdrowie, przeciwdziałając chorobom związanym ze stresem oksydacyjnym (Baer-Dubowska, Gackowski i Różalski, 2007). Poziom substancji bioaktywnych w roślinach zależy od wielu czynników, między innymi od odmiany rośliny i jej części, od stopnia dojrzałości czy warunków uprawy. Spośród wielu metabolitów wtórnych występujących w burakach ćwikłowych dużą rolę odgrywają saponiny triterpenowe, barwniki betalainowe i związki polifenolowe, jako substancje o działaniu bioaktywnym. Jak wynika z badań własnych prowadzonych przez autorkę, zawartość niektórych metabolitów wtórnych buraka, np. betalain czy saponin triterpenowych, jest cechą odmianową rośliny. Właściwości prozdrowotne buraka ćwikłowego wynikają z obecności wielu związków bioaktywnych, między innymi barwników betalainowych (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016; Sawicki i Wiczkowski, 2018), związków polifenolowych (Ravichandran i in. 2012; Koubaier i in., 2014) i saponin triterpenowych (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016). Oprócz właściwości przeciwutleniających metabolity wtórne buraka ćwikłowego wykazują działanie przeciwbakteryjne, przeciwzapalne, przeciwwirusowe (Clifford i in., 2015; Gandia-

-Herrero i in., 2016; Khan i Giridhar, 2015; Kumar i Brooks, 2018; Ravichandran i in., 2013; Sawicki i in., 2016; Sheila i in., 2017; Slimen i in., 2017) oraz przeciwnowotworowe (Das i in., 2013; Kapadia i in., 2011).

Saponiny triterpenowe

Występujące odmiany buraka ćwikłowego różnią się między sobą składem i zawartością metabolitów wtórnych, do których zalicza się saponiny triterpenowe (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski 2016; Mikołajczyk-Bator, Błaszczyk, Czyżniejewski, i Kachlicki, 2016a). Glikozydy saponinowe dzielą się na dwie grupy w zależności od budowy aglikonu. Wyróżnia się saponiny sterydowe i trójterpenowe. Saponiny trójterpenowe o pięciopierścieniowym szkielecie węglowym są znacznie bardziej rozpowszechnione w świecie roślinnym (Oleszek, 2009). Część cukrowa saponiny jest zwykle kilkuskładnikowa (do 12 cząsteczek cukrów). Przedstawicielem trójterpenów pięciocyklicznych jest np. kwas oleanolowy występujący w saponinach buraka cukrowego (Sparg, Light i Staden, 2004). W burakach ćwikłowych, analogicznie do buraków cukrowych, stwierdzono występowanie saponin triterpenowych zarówno w liściach, jak i w korzeniach surowca (Mroczek, Kapusta, Janda i Janiszowska, 2012; Mikołajczyk-Bator i in. 2016a; Mikołajczyk-Bator, Błaszczyk, Czyżniejewski, i Kachlicki, 2016b). Zawartość saponin w burakach ćwikłowych waha się od 7669 μg/g s.m. do 12216.3 μg/g s.m. (Mroczek i in., 2012) i zależy zarówno od odmiany, jak i części korzeni buraków ćwikłowych (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016). Według badań własnych prowadzonych przez autorkę wyizolowane z buraków ćwikłowych i oczyszczone techniką ekstrakcji do fazy stałej SPE (ang. *solid phase extraction*) ekstrakty saponin triterpenowych wykazują aktywność antyoksydacyjną. W badaniach tych stwierdzono istotną korelację między zawartością saponin w buraku i aktywnością antyoksydacyjną ekstraktów wyizolowanych z miąższu różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).

Szczegółowe badania składu jakościowego buraka ćwikłowego prowadzone w ramach niniejszej pracy przez autorkę, polegające na wykorzystaniu różnych technik chromatograficznych, w tym zastosowaniu chromatografu cieczowego sprzężonego ze spektrometrem mas, pozwoliły na scharakteryzowanie dużej różnorodności struktur saponin występujących w miąższu i skórze trzech odmian świeżych, ogrzewanych i przechowywanych korzeni buraka ćwikłowego. Saponiny triterpenowe obecne w korzeniach buraka ćwikłowego występują w formie glikozydów związanych z czterema różnymi aglikonami, tj. z kwasem oleanolowym, hederageniną, kwasem akebonowym i gipsogeniną. Natomiast w korzeniach buraków cukrowych, należących do tej samej rodziny *Caryophyllales*, zidentyfikowano dodatkowo norhederageninę jako aglikon saponin (Mikołajczyk-Bator i in., 2016b). W strukturze saponin buraków ćwikłowych *Beta vulgaris* L. znajdują się cukry, takie jak heksozy, pentozy, kwas glukuronowy, oraz dwa rodzaje

nietypowych podstawników, acetalowy i dioksolanowy, przyłączanych do kwasu uronowego (Yoshikawa, Murakami, Kadoya, Yamahara i Matsuda 1996; Yoshikawa, Murakami, Kadoya, Yamahara i Matsuda, 1998; Mikołajczyk-Bator i in., 2016a). Podstawniki te powstają w wyniku utleniania i przekształcenia glukozy. Z ekstraktów wyizolowanych ze skór i miąższu korzeni buraka ćwikłowego trzech odmian wstępnie zidentyfikowano 49 saponin triterpenowych (44 w odmianie Nochowski, Mikołajczyk-Bator i in., 2016a), w tym stwierdzono obecność 10 grup izomerów. Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że skład wyizolowanych mieszanin saponin uzyskanych z *B. vulgaris* różni się w obrębie odmian surowca oraz w zależności od części użytkowej buraka.

Buraki ćwikłowe są spożywane głównie po ich przetworzeniu, w trakcie którego zmienia się struktura związków biologicznie czynnych oraz smak i właściwości przeciwutleniające tego surowca. W badaniach własnych założono, że zarówno smak, jak i właściwości przeciwutleniające buraków ćwikłowych przynajmniej częściowo wynikają z obecności saponin triterpenowych w tym surowcu. Zmiana struktury różnych metabolitów wtórnych, tj. saponin, w czasie przetwarzania może prowadzić do zmian jakości gotowego produktu z buraków ćwikłowych, w tym smaku surowca. Podczas procesów technologicznych mających na celu otrzymanie gotowych produktów spożywczych świeże buraki ćwikłowe są poddawane różnym zabiegom związanym z działaniem podwyższonej temperatury. W czasie procesu pasteryzacji czy ogrzewania saponiny triterpenowe mogą ulegać degradacji, jak to ma miejsce w przypadku saponin wielu roślin strączkowych (Singh, B., Singh, J.P., Singh, N. i Kau, 2017), w efekcie których zmienia się smak końcowego produktu. W literaturze brakuje doniesień w pracach naukowych na temat zmian zawartości saponin triterpenowych w przetworzonych burakach ćwikłowych na gotowe produkty spożywcze i w czasie ich przechowywania. Nie wiadomo też, jaki wpływ mają procesy technologiczne na jakość sensoryczną gotowych produktów z buraków ćwikłowych. Te zagadnienia są tematem niniejszej pracy i zostały omówione w dalszej części monografii.

Biodostępność saponin

Saponiny są słabo wchłaniane i wykazują długi czas przebywania w przewodzie pokarmowym. Sapogeniny (aglikony) wykazują wyższą biodestępność niż saponiny. Saponiny wraz z pożywieniem są transportowane do jelita grubego, a przy udziale odpowiedniej mikroflory, która powoduje deglikozylację saponin dzięki aktywności glikozydaz, takich jak glukozydaza, ramnozydaza lub ksylozydaza, saponiny ulegają deglikozylacji do sapogenin (Wan i in., 2013).

Hierro, Herrera, Fornari, Reglero i Martin (2018) wskazują, że stabilność saponin w środowisku żołądka i jelit, a w szczególności żołądka, jest niska, ale proces hydrolizy saponin zachodzący w żołądku może prowadzić do przemiany do sapogenin,

które wykazują większą biodestępność w organizmie człowieka niż saponiny. Ważną rolę w procesie hydrolizy saponin do sapogenin odgrywa mikroflora przewodu pokarmowego (Dong i in., 2017; Wan i in., 2013). Nowe badania wykazują, że saponiny mogą być wykorzystane jako substancje regulujące mikroflorę jelitową i wykazujące działanie prebiotyczne (Hierro i in., 2018).

Główną przyczyną niskiej biodostępności saponin jest ich duża masa cząsteczkowa i niska przenikalność przez błony komórkowe (Singh i Chaudhuri, 2018). Pomimo dobrej rozpuszczalności cząsteczek saponin wynikającej z obecności polarnej części cukrowej saponiny są złożonymi związkami glikozydowymi, o masie cząsteczkowej zwykle przekraczającej 500 Da, zatem niesprzyjającej wysokiej biodostępności (Liu i in., 2009; Gao, Basu, Yang, Deba i Hu, 2012). Korzystniejsze właściwości chemiczne wynikające ze struktury sapogenin, w porównaniu z saponinami, skutkują wyższą biodostępnością tych związków. Niemniej jednak różnorodność występujących struktur chemicznych sapogenin może być przyczyną ich różnej biodostępności, zatem jak wskazują Hierro i in. (2018), badania nad biodostępnością saponin powinny się koncentrować wokół określenia właściwości chemicznych struktur sapogenin umożliwiających ich najwyższy poziom biodostępności. Autorzy wskazują też na ważną rolę innych składników żywności zwiększających absorpcję (ang. *absorption enhancers*) sapogenin w jelitach, do których zaliczają się tłuszcze.

Barwniki betalainowe

Barwniki betalainowe (betalainy) są wtórnymi metabolitami występującymi w burakach ćwikłowych. Betalainy, ze względu na swoją budowę, dzielą się na fioletowe betacyjaniny i żółte betaksantyny. Betacyjaniny w swojej strukturze zawierają kwas betalamowy i glukozyd cyklo-3,4-dihydroksyfenyloalaniny, dzięki czemu zostaje wydłużony układ podwójnych wiązań sprzężonych, co powoduje fioletowe zabarwienie betacyjanin, z maksimum pochłaniania światła przy λ_{max} około 540 nm.

Żółty kwas betalamowy stanowi układ chromoforowy obu grup barwników. W przypadku betaksantyn kwas betalamowy łączy się na drodze kondensacji z aminokwasami (z glutaminą lub kwasem glutaminowym) lub aminą, nie powodując wydłużenia sprzężeń układu 1,7-diazoheptametinowego. Kwas ten należy do żółtych betaksantyn o maksimum pochłaniania światła λ_{max} wynoszącym około 480 nm.

W przypadu betacyjanin, w których neobetanidyna (14, 15-dehydrobetanidyna) jest aglikonem, maksimum pochłaniania światła jest przesunięte do zakresu odpowiadającego betaksantynom, do około 465 nm. Pomimo żółtej barwy neobetanina jest strukturalnie zaliczana do betacyjanin.

Wszystkie poznane betacyjaniny są heteroglikozydami betanidyny lub *izo*-betanidyny. *Izo*-betanidyna jest epimerem C15 betanidyny.

W roślinach występuje bardzo wiele betaksanyn, różniących się zwykle aminokwasem, z którym połączony jest kwas betalamowy. Spośród betaksantyn

w burakach ćwikłowych w największej ilości występuje wulgaksantyna I, zawierając glutaminę, i wulgaksantyna II z kwasem glutaminowym. Główną betaksantyną w owocach opuncji figi indyjskiej (*Opuntia ficus indica* L.) jest żółto-pomarańczowa indikaksantyna, w której składzie obecny jest aminokwas prolina.

Obie grupy betalain są alkaloidami zawierającymi czwartorzędowy atom azotu w heterocyklicznym pierścieniu. W Polsce burak ćwikłowy jest jedynym warzywem uprawnym zawierającym znaczne ilości barwników betalainowych. Zawartość betacyjanin w korzeniach buraka ćwikłowego wynosi od 0,30 do 3 $mg \cdot g^{-1}$ świeżej masy, a zawartość betaksantyn od 0,2 do 1,4 $mg \cdot g^{-1}$, w zależności od odmiany i części korzeni. Betalainy występują również w innych jadalnych roślinach, spośród których można wymienić owoce kaktusów, np. owoce opuncji figi indyjskiej (*Opuntia ficus indica* L.), owoce *Hylocereus polyrhizus* (pitaja, smoczy owoc) (Mosshammer, Stintzing i Carle, 2005), bulwy roślin *Ullucos tuberosus* (Svenson, Smallfield, Joyce, Sansom i Perry, 2008), jak również buraki liściowe *Swiss chard* (Ninfali i in., 2007). Poza surowcami jadalnymi betalainy występują w muchomorach z rodzaju *Amanita*, *Hygrocybe* i *Hygrophorus* (Georgiev, Ilieva, Bley i Pavlov, 2008) oraz owocach szkarłatki amerykańskiej *Phytolacca americana* (Strack, Vogt i Schliemann, 2003).

Do tej pory zidentyfikowanio 78 barwników betalainowych obecnych w 17 rodzinach spośród 34 rodzin z rzędu *Caryophyllales* (goździkowce) (Belhadj Slimen, Najar i Abderrabba, 2017; Khan i Giridhar, 2015). Natomiast w burakach ćwikłowych zidentyfikowano 30 barwników betalainowych, w tym 18 betacyjanin i 12 betaksantyn (Sawicki i in. 2016). Obie grupy barwników betalainowych (betacyjaniny i betaksantyny) wykazują właściwości przeciwutleniające (Escribano, Pedreno, Garcia-Carmona i Munoz, 1998; Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016). Właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych, wynikające z ich wysokich aktywności antyoksydacyjnych, wyższych niż naturalnych przeciwutlniaczy, powodują, że surowiec ten jest dla konsumentów źródłem naturalnych związków wpływających korzystnie na zdrowie. Aktywność antyoksydacyjna betacyjanin i betaksantyn jest 3–4 razy wyższa niż witaminy C (Cai, San i Corke, 2003).

Związki polifenolowe

Związki polifenolowe są wtórnymi metabolitami roślin występującymi w różnych ilościach w zależności od części rośliny. W burakach ćwikłowych największa ilość związków polifenolowych znajduje się w skórce (50%), w górnej części korzenia, następnie przy nasadzie rozety (37%), a najmniej związków polifenolowych jest w miąższu (13%) (Kujala, Loponen, Klika i Pihlaja, 2000). Sumaryczna zawartość związków fenolowych otrzymanych z ekstraktów buraków ćwikłowych, oznaczonych metodą spektroskopową z odczynnikiem Folina-Ciocalteu'a, wynosi 4,3 mg kwasu galusowego/g s.m. (Kähkönen i in., 1999). Według innych autorów sumaryczna zawartość kwasów fenolowych (oznaczonych metodą HPLC) wynosi 27

mg/100g świeżej masy buraków ćwikłowych, w tym zawartość poszczególnych kwasów oznaczono na poziomie: ferulowego 25 mg/100g ś.m., protokatechowego 0,35 mg/100g ś.m., wanilinowego 0,34 mg/100g ś.m., *p*-kumarowego 0,65 mg/100g ś.m., *p*-hydroksybenzoesowego 0,05 mg/100g ś.m., syryngowego 0,51 mg/100g ś.m. oraz kofeinowego 0,19 mg/100g ś.m. (Mattila i Hellström, 2007; Kumar i Pruthi, 2014). Spośród innych kwasów fenolowych wymienia się kwas wanilinowy, chlorogenowy, protokatechowy, anyżowy i kumarowy (Kujala i in., 2000; Ravichandran i in., 2012; Vulić i in., 2014). Spośród zidentyfikowanych flawonoidów w burakach ćwikłowych występuje katechina, epikatechina i rutyna (Vulić i in., 2014). Zawartość związków polifenolowych w burakach ćwikłowych zmienia się w czasie różnych procesów technologicznych, podczas których ich zwartość zmniejsza się lub wzrasta. Kwas 4-hydroksybenzoesowy występuje w największych ilościach spośród zidentyfikowanych kwasów fenolowych w przetwarzanych burakach ćwikłowych, następnie w kolejności: kwas wanilinowy, chlorogenowy, trans-ferulowy i kofeinowy. Kwasy anyżowy i kumarowy występują w śladowych ilościach w przetwarzanych burakach ćwikłowych (Ravichandran i in., 2012). Związki polifenolowe wykazują działanie przeciwutleniające, korzystnie wpływając na zdrowie (Giglio i in., 2018; Kardum i Glibetic, 2018). Właściwości przeciwutleniające zarówno buraków ćwikłowych, jak i ich gotowych produktów, częściowo wynikają z obecności tych związków (Ravichandran i in., 2012).

Kujala, Loponen, Klika i Pihlaja (2000) wykazali, że całkowita zawartość związków fenolowych w zależności od części korzenia zmniejsza się według kolejności: skóra (50%), nasada (37%) i miąższ (13%). Jednocześnie w skórach stwierdzono największą zawartość barwników betalainowych (54%), następnie w nasadzie korzeni (32%) i miąższu (14%).

2.3. Właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych

Żywność pochodzenia roślinnego charakteryzuje się zawartością wielu odżywczych i nieodżywczych składników, które wpływają leczniczo na zdrowie. Działanie związków prozdrowotnych na organizm człowieka jest tematem wielu opracowań naukowych, a ich korzystne działanie wiąże się z opóźnianiem procesów starzenia się i spowalnianiem lub zmniejszaniem częstości występowania chorób degeneracyjnych (otyłość, cukrzyca, nowotwory złośliwe, zawał serca). Właściwości prozdrowotne warzyw wynikają m.in. z ich aktywności antyoksydacyjnej. Oprócz barwników betalainowych związkami o właściwościach antyoksydacyjnych są również saponiny triterpenowe wyizolowane z korzeni buraka ćwikłowego.

Jakość produktów spożywczych jest determinowana odpowiednim doborem surowców, metodami przetwarzania i utrwalania produktów, jak również warunkami przechowywania gotowego produktu spożywczego. Produkty otrzymywane z różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego będą się charakteryzowały różnymi właściwościami prozdrowotnymi, wynikającymi z różnej zawartości związków bioaktywnych w surowcu. Ze względu na to, że walory sensoryczne są ważnym aspektem jakości produktów spożywczych, należy zwrócić na nie szczególną uwagę przy doborze odpowiednich odmian korzeni buraka ćwikłowego do wyprodukowania odpowiednich produktów spożywczych. Zarejestrowane w Krajowym Rejestrze COBORU odmiany korzeni buraka ćwikłowego oraz nowo wyhodowane, nad którymi trwają nadal prace badawcze, różnią się przede wszystkim smakiem, który jest wynikiem różnej zawartości substancji naturalnych występujących w surowcu. Właściwości prozdrowotne i jakość sensoryczna danego produktu są najistotniejszymi cechami decydującymi o wyborze danego produktu spożywczego przez konsumenta. Jakość produktu spożywczego jest pojęciem złożonym, głównie ze względu na odmienność ocen stawianych przez konsumentów i specjalistów (Czapski, 1999). Konsument wiąże jakość produktów spożywvczych z oceną sensoryczną i takimi cechami produktu, jak smak, wygląd i zapach. Specjaliści mają na uwadze inne cechy, dokonując oceny jakości produktów spożywczych, a mianowicie ich wartość odżywczą i jakość zdrowotną. Wraz z postępem edukacji społeczeństwa w kwestii sposobu odżywiania i zdrowego stylu życia rośnie rola czynników związanych z wartością odżywczą i zdrowotną żywności (Kubera, 2002).

Obecnie w handlu są dostępne produkty spożywcze o działaniu prozdrowotnym zawierającym w składzie buraki ćwikłowe, są to np. czipsy buraczane oraz różnego rodzaju produkty typu fit zawierające liofilizowane buraki ćwikłowe (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017b; Wiczkowski i in., 2018). Według danych zawartych w literaturze właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych wynikają z zawartości w surowcu barwników betalainowych i związków polifenolowych. Z przeprowadzonych badań wynika, że właściwości te wynikają dodatkowo z obecności w surowcu saponin triterpenowych, które w przedstawionych badaniach wykazywały aktywność antyoksydacyjną. W burakach ćwikłowych zidentyfikowano 30 barwników betalainowych (Sawicki i in., 2016), a spośród saponin triterpenowych w burakach zidentyfikowano 49 różnych struktur w badaniach własnych i opisano w publikacji Mikołajczyk-Bator i in. (2016a) oraz niniejszej monografii.

Biodostępność

Właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych w dużym stopniu przypisuje się zawartości barwników betalainowych, które jako kationowe antyoksydanty wykazują zdolności zmiatania wolnych rodników (Kujala, Vienola, Klika, Loponen i Pihlaya, 2002). Wiele badań naukowych potwierdza, że w organizmie człowieka

barwniki betalainowe wykazują biodostępność, przenikając z przewodu pokarmowego do krwiobiegu (Frank i in. 2005; Netzel i in. 2005; Tesoriere, Allegra, Butera i Livera, 2004; 2005; Roemmelt i in., 2014; Wiczkowski i in., 2018). Istotną rolę we wchłanianiu betacyjanin odgrywa sposób ich transportu do jelita cienkiego przez nabłonek. Betacyjaniny są wstępnie trawione w żołądku, po czym są wchłaniane przez nabłonek do jelita cienkiego na drodze dyfuzji prostej, gdzie ma miejsce przenikanie wszystkich związków hydrofilowych i hydrofobowych. Z kolei wchłanianie innych produktów trawienia wymaga dużego nakładu energii oraz swoistych przenośników w transporcie czynnym (Klewicka, 2012; Nayak, Chethana, Rastogi i Raghavarao, 2006). Betacyjaniny są wchłaniane do układu krążenia w niezmienionej formie, ale także jako metabolity betacyjanin powstające w wyniku koniugacji z siarczanami czy kwasem glukuronowym (Roemmelt i in., 2014).

Jak wynika z badań przeprowadzonych przez Frank i in. (2005), przyswajalność betacyjanin jest niska, a ilość betacyjanin (betaniny i izobetaniny) wydalona z moczem po spożyciu soku z buraków ćwikłowych wynosiła 0,28% spożytej ilości tych barwników. Kanner, Harel i Granit (2001) wykazali, że po spożyciu soku z buraków ćwikłowych w moczu znajduje się betanina i izobetanina, które stanowiły 0,5–0,9% spożytych betacyjanin (Kanner i in., 2001). Natomiast Tesoriere i in. (2013) wykazali, że po spożyciu soku z opuncji betanina i indikaksantyna były transportowane poprzez szczeliny pomiędzy komórki nabłonka jelitowego, z czego wynika, że przenikają do krwi w niezmienionej formie, czyli jako glukozydy. Ponadto po spożyciu owoców kaktusa zawierających barwniki betalainowe stwierdzono ich obecność w czerwonych ciałkach krwi, jako efekt przenikania betalain przez błony komórkowe czerwonych ciałek krwi (Tesoriere i in., 2005). Większą biodostępność betalain uzyskuje się w kompleksach betalain z metalami, które wykazują działanie antyoksydacyjne, głównie w kompleksie z selenem w obecności kwasu askorbinowego (Khan i Giridhar, 2014). Po spożyciu buraków ćwikłowych u około 10–14% populacji występuje zjawisko beturii, czyli czerwonego zabarwienia moczu, które nasila się przy deficycie żelaza (Sotos, 1999; Watts, Lennard, Mason, Tucker i Woods, 1993). Badania Roemmelt i in. (2014) wskazują, że spożycie buraków ćwikłowych powoduje adsorpcję betaniny i jej aglikonu betanidyny do nabłonka jelita grubego, zabarwiając go na kolor purpurowy (proces ten nie jest trwały), oraz przenikanie betaniny w niezmienionej formie do krwi. W 2014 roku po raz pierwszy wykazano przenikanie do moczu, oprócz niezmienionych form betacyjanin, tj. betaniny i izobetaniny, dodatkowo produktów przemiany betaniny, czyli zmienionych form betaniny, tj. glukuronidu betanidyny (m/z 565.1294) i siarczanu betanidyny (m/z 469.0541), które powstały w procesie koniugacji z kwasem glukuronowym i siarczanami. W badaniach tych autorzy stosowali zaawansowane techniki wysokorozdzielczej chromatografii cieczowej LC-HRMS (ang. *liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry*) połączonej ze spekrometrią mas do identyfikacji betacyjanin (Roemmelt i in., 2014).

Wiczkowski i współpracownicy (2018) zidentyfikowali betaninę i izobetaninę oraz ich aglikony betanidynę i izobetanidynę w moczu wolontariuszy spożywających sok z buraków ćwikłowych lub czipsy z buraków ćwikłowych (chrupiące plastry z buraka ćwikłowego wyprodukowane przez firmę FPH Paula z Kalisza z wykorzystaniem suszenia metodą próżniowo-mikrofalową). W moczu zidentyfikowane betacyjany i ich aglikony stanowiły średnio 0,3% spożytych betacyjanin. Autorzy stwierdzili, że biodostępność betacyjanin z obu spożywanych produktów jest taka sama.

Azotany. Buraki ćwikłowe są surowcem mającym zdolność akumulowania dużych ilości azotanów V (NO_3^-), a ich zawartość w roślinie zależy od odmiany, stopnia dojrzałości surowca i warunków uprawy. W ostatnich latach wiele prac naukowych jest poświęconych tematyce korzystnego wpływu azotanów na układ sercowo-naczyniowy (McIlvenna i in., 2017). Według Presley i in. (2011) azotany III (NO_2^-) mogą wykazywać działanie lecznicze, mogą powodować rozszerzenie naczyń krwionośnych i wpływać na zwiększenie przepływu krwi. Według autorów słaby przepływ krwi oraz niedotlenienie są przyczyną wielu chorób układu krążenia, jak również obniżenia funkcji poznawczych i fizycznych w czasie procesu starzenia. Badania autorów wskazują, że dieta, w której są spożywane warzywa bogate w azotany NO_3^-, do których należy burak ćwikłowy, powoduje wzrost stężenia azotanów NO_2^- w osoczu krwi. Azotany NO_2^- powodują obniżenie ciśnienia krwi i lepszą wydajność fizyczną (Esatbeyoglu, Wagner, Schini-Kerth i Rimbach, 2015; Lara i in., 2016; Murphy, Eliot, Henertz i Weiss, 2012; Presley i in., 2011). Azotany NO_3^- po spożyciu są wchłaniane z przewodu pokarmowego i transportowane do gruczołów ślinowych, gdzie ulegają – za pośrednictwem bakterii symbiotycznych – redukcji do azotanów NO_2^-, które po połknięciu zostają ostatecznie wchłonięte z jelita do układu krążenia (Larsen, Weitzberg, Lundberg i Ekblom, 2007; Lundberg i in., 2008). Według Baiao i współpracowników (2017) około 25% wchłoniętych drogą pokarmową azotanów NO_3^- jest wychwytywanych przez gruczoły ślinowe. Azotany te (NO_3^-) są redukowane w organizmie człowieka do NO_2^- (dzięki reduktazie NO_3^-), a następnie rozkładane do tlenku azotu NO, który jest utleniany do NO_2^-. Markerem wykrywania tlenku azotu NO w organizmie jest obecność NO_2^- w moczu. Po spożyciu buraków ćwikłowych i jego produktów można zidentyfikować NO_2^- w moczu.

Wielu autorów wskazuje na dobroczynny wpływ na zdrowie tlenku azotu NO (Machha i Schechter, 2011; Bryan i Ivy, 2015; Baiao, Silva, Aguila i Paschoalin, 2017), który powoduje rozszerzenie naczyń krwionośnych, obniżenie ciśnienia krwi, wspomagając funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego (Lundberg, CarlstrÖm i Weitzberg, 2009; Lundberg, Carlström i Weitzberg, 2018). Omar, Webb, Lundberg i Weitzberg (2016) wskazują na terapeutyczne działanie azotanów NO_3^-, za pośrednictwem tlenku azotu NO w profilaktyce i leczeniu nie tylko chorób sercowo-naczyniowych, ale także chorób metabolicznych. Według autorów tlenek azotu (NO) jest generowany endogennie w organizmie, w celu regulacji wielu procesów fizjologicznych, w tym funkcji sercowo-naczyniowych i metabolicznych. Spadek

produkcji i biodostępności NO jest cechą charakterystyczną wielu chorób przewlekłych, w tym nadciśnienia, miażdżycy i cukrzycy. Jak podają Ormsbee, Lox i Arciero (2013), w organizmie człowieka w sprzyjających warunkach (niskie pH oraz niska dostępność tlenu, w mięśniach szkieletowych podczas wysiłku fizycznego) może dojść do redukcji azotanów NO_2^- do tlenku azotu NO, którego wzrost poziomu prowadzi do zwiększenia przepływu krwi. Wiele badań wskazuje, że dieta bogata w warzywa zawierające azotany NO_3^-, w szczególności buraki ćwikłowe, przyczynia się do zapobiegania chorobie wieńcowej serca (Bondonno i in., 2018; Clifford i in., 2015; Joshipura i in., 2001; Lidder i Webb, 2013; Münzel i Daiber, 2018; Omar i in., 2016).

Buraki ćwikłowe wykazują tendencję do nadmiernego gromadzenia azotanów (V) NO_3^-. Dopuszczalna zawartość azotanów NO_3^- w korzeniach buraków ćwikłowych wynosi 1500 mg/kg surowca (Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r.). W badaniach Gościnnej i współpracowników (2012) spośród 14 odmian buraków ćwikłowych badanych pod względem zawartości azotanów NO_3^- tylko w dwóch odmianach wykazano większą zawartość azotanów NO_3^- o 9 i 15%, niż podaje norma (Gościnna, Czapski, Mikołajczyk-Bator i Kidoń, 2012). Azotany NO_3^- nie są toksyczne, jednak mogą ulec redukcji do azotanów NO_2^- i przemianie do N-nitrozoamin. N-nitrozoaminy powstają głównie na skutek nitrozowania (w środowisku kwaśnym, w żołądku) obecnych w żywności amin za pośrednictwem azotanów NO_2^- lub NO_3^- redukowanych do NO_2^- przez bakterie obecne w jamie ustnej. Większość N-nitrozoamin wykazuje działanie rakotwórcze dla zwierząt, dlatego uważa się, że mogą się przyczyniać do powstawania chorób nowotworowych w organizmie człowieka, głównie żołądka i jelita grubego (Bryan i van Grinsven, 2013; Butler, 2015). Obecność azotanów NO_2^- w żywności wpływa w tym przypadku negatywnie na jej zdrowotność.

Aktywność przeciwutleniająca

Właściwości prozdrowotne buraków ćwikłowych wynikają z ich aktywności do redukcji wolnych rodników (ROS) i są wyrażane jako aktywność antyoksydacyjna. Wysoka aktywność antyoksydacyjna buraków ćwikłowych wynika z zawartości w surowcu substancji biologicznie aktywnych, głównie z obecności barwników betalainowych, polifenoli oraz saponin triterpenowych (Georgiev i in., 2010; Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017a; Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016; Ravichandran i in., 2013; Sawicki i in., 2016; Vulić i in., 2014). Betanina jest zaliczana do kationowych antyoksydantów, wykazuje największą aktywność antyoksydacyjną w pH powyżej 7. W strukturze betaniny występuje grupa fenolowa (–OH) w pozycji C6 i grupa aminowa (–NH) w pierścieniu, dzięki czemu betanina wykazuje właściwości przeciwutleniające (Cai i in., 2003; Kanner i in., 2001; Strack i in., 2003). Natomiast grupy (–OH), które występują w przyłączonej glukozie do betaninidyny, nie są donorami wodoru, dlatego nie są grupami aktywnymi (Cai i in., 2003).

W środowisku kwaśnym struktura betaniny i izobetaniny przyjmuje formę kationu, z dodatnim ładunkiem na atomie azotu N1, a wraz ze wzrostem pH grupa hydroksylowa i grupy karboksylowe cząsteczki betaniny ulegają deprotonacji i zmieniają się właściwości fizykochemiczne związku (Rodriguez-Amaya, 2018). Wraz ze wzrostem pH środowiska wzrasta aktywność przeciwutleniająca betaniny i izobetaniny, ponieważ w środowisku zasadowym oba związki przyjmują formę dianionu i są lepszymi donorami wodoru i elektronu. Na podstawie badania rezonansowego struktury betaniny wykazano, że zachodzi koniugacja elektronów pomiędzy resztą 5-O-β-glukozydu *cyklo*-DOPA a resztą kwasu betalamowego, co jest przyczyną wysokiej zdolności przeciwutleniającej betaniny (Gliszczyńska-Świgło, Szymusiak i Malinowska, 2006). Takie właściwości mogą mieć również produkty przemian i rozpadu betaniny, np. neobetanina oraz *cyklo*-DOPA. Jak podają Pedreno i Escribano (2001), produkty rozpadu mogą wykazywać różną aktywność antyoksydacyjną w zależności od odczynu środowiska, przykładowo glukozyd *cyklo*-DOPA i kwas betalamowy jako produkty degradacji betaniny nie mają wpływu na aktywność antyoksydacyjną w środowisku zasadowym, ale mogą ją wykazywać w środowisku kwaśnym (Pedreno i Escribano, 2000).

Właściwości przeciwutleniające wykazują obie grupy barwników betalainowych, zarówno betacyjaniny, jak i betaksantyny (Escribano i in., 1998; Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016). W porównaiu do antocyjanów aktywność antyoksydacyjna betaniny jest 1,5–2 razy większa (Gliszczyńska-Świgło i in., 2006). Czapski i współpracownicy (2009) wykazali, że aktywność antyoksydacyjna soków z 11 odmian buraka ćwikłowego jest zróżnicowana i zależy od odmiany buraków ćwikłowych. Aktywność antyoksydacyjna badanych soków wynosiła od 10,2 do 20,6 μmol Troloxu/ml i jest istonie skorelowana z zawartością betacyjanin (Czapski i in., 2009). Aktywność antyoksydacyjna buraków ćwikłowych i ich produktów wynika również z obecności innych metabolitów wtórnych niż betalain, a mianowicie z obecności związków polifenolowych w surowcu. Jak wynika z badań Georgiev i współpracowników (2010), zachodzi korelacja pomiędzy wysoką zawartością związków polifenolowych w ekstraktach korzeni włośnikowych buraka ćwikłowego a wzrostem właściwości zmiatania wolnych rodników (Georgiev i in., 2010). Oprócz soków i korzeni buraków ćwikłowych właściwości przeciwutleniające wykazują również wytłoki buraków ćwikłowych. Spośród pięciu badanych odmian korzeni buraka ćwikłowego największe właściwości przeciwutleniające w teście DPPH wykazywały wytłoki odmiany Detroid (EC_{50} = 2,06 ± 0,10 μg/ml), a najmniejsze wytłoki odmiany Kestrel (EC_{50} = 7,63 ± 0,36 μg/ml) (Vulić i in., 2014). Ci sami autorzy wykazali, że wytłoki buraka ćwikłowego są dobrym źródłem nutraceutyków i składników do produkcji żywności funkcjonalnej, a ich właściwości przeciwutleniające wynikają z obecności zarówno barwników betalainowych, jak i polifenoli.

Buraki ćwikłowe wymienia się w pierwszej dziesiątce rankingu warzyw o najwyższej aktywności przeciwutleniającej. Wyższą aktywność przeciwutleniającą od

buraków wykazują kolejno fasola, czosnek, cebula, fasola szparagowa i szparagi, natomiast niższą aktywność przeciwutleniającą niż buraki ćwikłowe stwierdzono w przypadku pomidorów i brokułów (Vinson, Hao, Su i Zubik, 1998).

Dane literaturowe prezentują bardzo odmienne uszeregowanie różnych gatunków warzyw pod względem ich właściwości przeciwutleniających. Najwyższą aktywność przeciwutleniającą wykazuje papryka czerwona i zielona. Ou, Huang, Hampsch-Woodill, Flanagan, i Deemer (2002) wymieniają z kolei buraki ćwikłowe na trzecim miejscu, za papryką czerwoną i zieloną przy ocenie aktywności przeciwutleniającej metodą FRAP, i na piątym miejscu za papryką zieloną, szpinakiem, cebulą fioletową i brokułami metodą ORAC. W innej pracy buraki ćwikłowe są wymienione na szóstym miejscu pod względem poziomu aktywności przeciwutleniającej, przy czym warzywa o wyższej aktywności przeciwutleniającej wymienia się w następującej kolejności: czosnek (19,4 μM Troloxu/g), jarmuż (17,7 μM Troloxu/g), szpinak (12,6 μM Troloxu/g), brukselka (9,8 μM Troloxu/g), brokuły (8,9 μM Troloxu/g), buraki czerwone (8,4 μM Troloxu/g), papryka czerwona (7,1 μM Troloxu/g), cebula (4,5 μM Troloxu/g), kukurydza (4,0 μM Troloxu/g), bakłażan (3,9 μM Troloxu/g), a najniższą aktywność przeciwutleniającą stwierdzono w marchwi (2,1 μM Troloxu/g), dyni żółtej (1,5 μM Troloxu/g) i selerze (0,6 μM Troloxu/g) (Szajdek i Borowska, 2004). Według J.P. Singh, Kaur, Shevkani i N. Singh (2016) wysoką aktywność antyoksydacyjną wykazują czarna marchew i burak ćwikłowy, a znacznie niższą marchew pomarańczowa i szpinak (Singh i in. 2016).

Badania prowadzone przez autorkę wykazują, że aktywność przeciwutleniająca buraków ćwikłowych wynika zarówno z zawartości betalain, jak i saponin triterpenowych. Wiele prac jest poświęconych zawartości betalain i ich wpływowi na poziom aktywności przeciwutleniającej w różnych odmianach buraków ćwikłowych (Czapski i in., 2009; Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017a), a niewiele prac traktuje o działaniu antyoksydacyjnym saponin triterpenowych buraka ćwikłowego (Mikołajczyk-Bator, 2015; Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016). Aktywność przeciwutleniająca ekstraktów saponinowych otrzymanych z kilku odmian korzeni buraków ćwikłowych była skorelowana z zawartością saponin triterpenowych (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).

Odpowiedni dobór warunków w czasie zabiegów technologicznych, zwłaszcza związanych z działaniem podwyższonej temperatury, wpływa na poprawienie jakości żywności i skuteczne utrzymanie jej potencjału antyoksydacyjnego. Proces fermentacji mlekowej w sokach z buraka ćwikłowego spowodował obniżenie aktywności przeciwutleniającej soków fermentowanych od 18 do 41% w zależności od zastosowanych szczepów, ponieważ nastąpiła częściowa degradacja betacyjanin (Klewicka i in., 2005). Zabiegi technologiczne, w których się stosuje podwyższoną temperaturę, takie jak gotowanie, blanszowanie czy suszenie, zwiększają właściwości przeciwutleniające produktów z buraków ćwikłowych, np. soków, suszów, czipsów

buraczanych (Kidoń i Czapski, 2007; Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017b). Natomiast Kidoń i Czapski (2007) stwierdzili dwukrotny wzrost aktywności antyoksydacyjnej buraków w czasie blanszowania, pomimo strat barwników czerwonych na poziomie 25%. W czasie procesów związanych z obróbką termiczną buraka ćwikłowego barwniki betalainowe obecne w surowcu mogą ulegać przemianie w inne barwniki, na skutek izomeryzacji, deglikozylacji, dekarboksylacji czy dehydrogenacji (Herbach, Stintzing i Carle, 2006). Wzrost aktywności przeciwutleniającej buraków ćwikłowych może być spowodowany produktami degradacji betacyjanin, powstającymi w czasie procesów związanych z działaniem na surowiec podwyższonej temperatury. Produkty degradacji betacyjanin mogą być silnymi antyoksydantami. Jednym z produktów termicznego rozpadu betaniny jest neobetanina, o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2018). Neobetanina, pomimo pomarańczowej barwy (λ_{max} = 465), pod względem budowy chemicznej jest zaliczana do betacyjanin (barwników fioletowych) (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017a). Wzrost aktywności antyoksydacyjnej buraka ćwikłowego w czasie przetwarzania obserwowali Ravichandran i współpracownicy (2013). Autorzy stwierdzili 1,5–3-krotny wzrost aktywności antyoksydacyjnej buraka ćwikłowego, oznaczonej metodą ABTS i DPPH, w porównaniu z próbą kontrolną, w czasie procesów technologicznych takich jak gotowanie, pieczenie, podgrzewanie mikrofalowe i pakowanie próżniowe. Wzrost aktywności przeciwutleniającej wynikał ze wzrostu zawartości niektórych polifenoli (np. kwasu 4-hydroksybenzoesowego, kwasu wanilinowego, kwasu kawowego, kwasu p-kumarowego) obecnych w burakach ćwikłowych poddawanych zabiegom technologicznym. Według autorów aktywność przeciwutleniająca buraków ćwikłowych częściowo wynika z zawartości związków polifenolowych w surowcu, a częściowo z obecności innych substancji biologicznie aktywnych, obecnych w roślinie. Autorzy wskazują na efekt synergiczny oddziaływania różnych związków biologicznie aktywnych, w tym związków polifenolowych powodujących aktywność antyoksydacyjną buraków ćwikłowych (Ravichandran i in., 2012). Według badań Sawickiego i Wiczkowskiego (2018) takie procesy jak ogrzewanie czy fermentacja buraków ćwikłowych powodują zachowanie i (lub) obniżenie aktywności przeciwutleniającej. Autorzy wskazują, że zmiany aktywności przeciwutleniającej buraków ćwikłowych poddanych procesom ogrzewania lub fermentacji wynikają nie tylko z obecności barwników betalainowych, ale także innych związków wykazujących potencjał antyoksydacyjny. Autorzy stwierdzili jednocześnie obniżenie zawartości barwników betalainowych odpowiednio o 51–61% i 61–88%.

Zawartość polifenoli (flawonoidów i kwasów fenolowych) w burakach ćwikłowych jest znacznie mniejsza niż barwników betalainowych. Do kwasów fenolowych zidentyfikowanych w burakach ćwikłowych zalicza się kwas ferulowy, wanilinowy, p-hydroksybenzoesowy, kofeinowy i protokatechowy, a z flawonoidów w burakach występuje katechina, epikatechina i rutyna (Vulić i in., 2014). Jak

podaje Kujala i in. (2002), miąższ korzeni buraka ćwikłowego zawiera od 0,008 do 1,68 mg·g^{-1} s.m. pochodnych kwasu ferulowego. Autorzy twierdzą, że zawartość pochodnych kwasu ferulowego (β-D-fruktofuranozyl-α-D-(6-O-(E)-feruloglukopyranozyd) w tym surowcu jest różna w zależności od odmiany korzeni buraka cwikłowego i w niektórych odmianach może być dwukrotnie większa (Kujala i in., 2002). W porównaniu do betaniny zawartość pochodnych kwasu ferulowego w skórze korzeni jest około 1000 razy mniejsza (Kujala i in., 2000). W wytłokach buraka ćwikłowego zawartość kwasu ferulowego wynosi 1,32 mg · g^{-1} suchej masy, a katechiny 0,38 mg·g^{-1} suchej masy wytłoków z buraków ćwikłowych (Vulić i in., 2014). Proces ogrzewania ułatwia ekstrakcję z tkanek buraka ćwikłowego wielu związków, w tym kwasu ferulowego. Stężenie kwasu ferulowego w burakach ćwikłowych jest zróżnicowane w zależności od odmiany buraka, a średnio odnotowuje się 14,40 ±6,75 mg/100 g (Kazimierczak i in., 2011; Klewicka, 2012; Kujala i in., 2000; Piasek, Bartoszek i Namieśnik, 2009). Badania Koubaier i współpracowników (2014) wskazują, że zawartość związków polifenolowych i barwników betalainowych w różnych częściach buraka ćwikłowego jest różna, co powoduje różną ich aktywność antyoksydacyjną. Według Ravichandran i współpracowników stężenie kwasów fenolowych, takich jak kawas 4-hydroksybenzoesowy, cynamonowy, wanilinowy, chlorogenowy, trans ferulowy i kawowy, w burakach ćwikłowych zależy od obróbki termicznej, jakiej podlega surowiec w trakcie przetwarzania (Ravichandran i in., 2012).

W wielu pracach opisano przeciwnowotworowe działanie produktów z buraka ćwikłowego, m.in. fermentowanego soku z buraka ćwikłowego (Kazimierczak i in., 2014; Klewicka, Nowak, Zduńczyk, Cukrowska i Błasiak, 2012; Krajka-Kuźniak, Paluszczak, Szarefer i Baer-Dubowska, 2013; Zielińska-Przyjemska, Olejnik, Dobrowolska-Zachwieja i Grajek, 2009) oraz przeciwzapalne (Vidal, Lòpez-Nicolás, Gandia-Herrero i García-Carmena, 2014). W czasie stresu oksydacyjnego dochodzi do zaburzenia równowagi między szybkością powstawania reaktywnych form tlenu (ang. *reactive oxygen species*, ROS) a wydolnością układu antyoksydacyjnego powodującego detoksykację ROS, co może prowadzić do stanów zapalnych, a w efekcie do inicjacji procesów karcenogenezy. W badaniach Zielińskiej-Przyjemskiej i współpracowników (2012) stwierdzono, że inkubacja neutrofili z betaniną znacznie hamuje powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS), powodując w efekcie zmniejszenie uszkodzenia DNA i apoptozy. W pracy Kujawskiej i współpracowników (2009) stwierdzono, że podawanie soku buraka ćwikłowego szczurom może w pewnym stopniu przeciwdziałać powstawaniu stresu oksydacyjnego indukowanego przez ksenobiotyki (NDEA – N-nitrozodietyloamina i CCl_4^- czterochlorek węgla), które wcześniej zostały im zaaplikowane. Autorzy wykazali, że uszkodzenia DNA leukocytów krwi powodowane przez oba ksenobiotyki zostały obniżone o 20% u szczurów, którym podawano sok z buraka ćwikłowego przed podaniem ksenobiotyku NDEA (Kujawska i in., 2009). W transformacji i usuwaniu związków toksycznych

z komórki biorą udział dwie grupy enzymów I i II. Enzymy fazy I przygotowują związek toksyczny do kolejnych etapów jego przemian w organizmie. Z kolei enzymy II fazy biorą udział w przemianie związków toksycznych (ksenobiotyków) w organizmie, powodując większą ich rozpuszczalność w wodzie i w konsekwencji szybsze wydalenie (Klewicka, 2012). Betalainy wykazują działanie prewencyjne, wpływając na detoksykację komórek poprzez indukcję i zwiększenie aktywności enzymów II fazy, zahamowanie komórek endotelialnych i hamowanie ekspresji ICAM1. Dalsze badania wykazały obniżenie cholesterolu LDL we krwi badanych osób oraz stopnia utleniania lipidów, co świadczy o przeciwutleniającym działaniu barwników betalainowych w organizmie człowieka po spożyciu buraków ćwikłowych (Allegra i in. 2005; Kanner i in., 2001; Wettasinghe, Bolling, Plhak, Xiao i Parkin, 2002).

Właściwości bioaktywne saponin

Wielu autorów bada właściwości biologiczne saponin. Guajardo-Flores, Serna-Saldívar i Gutiérrez-Uribe (2013) opisali aktywność antyoksydacyjną ekstraktu z kiełków fasoli. Według autorów bioaktywne działanie (przeciwnowotworowe, antyoksydacyjne i cytotoksyczne) ekstraktu fasoli wynika z zawartości saponin i flawonoidów oraz interakcji tych substancji w obrębie ekstraktu. Hamdi i współpracownicy (2017) wskazują, że ekstrakty zawierające saponiny i flawonoidy wyizolowane ze szparagów wykazują działanie antyoksydacyjne, antybakteryjne i cytotoksyczne. Badane właściwości biologiczne tych ekstraktów były różne, w zależności od części rośliny, z której zostały wyizolowane.

Z badań własnych wynika, że wyizolowane mieszaniny saponin z różnych odmian buraków ćwikłowych (świeżych i przetworów ogrzewanych oraz przechowywanych) wykazują aktywność antyoksydacyjną. Buraki, w których stwierdza się dużą zawartość saponin, stanowią dobre źródło surowców do produkcji żywności funkcjonalnej oraz żywności o właściwościach prozdrowotnych.

Mimo że saponiny są często określane jako naturalne substancje nieodżywcze, ich zainteresowanie ze strony badaczy wciąż wzrasta, o czym świadczą liczne publikacje naukowe, w których są omawiane właściwości bioaktywne saponin. Dane dostępne w literaturze wskazują, że saponiny to związki o szerokim spektrum działania, w tym leczniczym, i możliwościach aplikacyjnych. Z powodu korzystnych dla człowieka właściwości farmakologicznych znalazły zastosowanie w medycynie, szczególnie jako potencjalne środki chemioterapeutyczne oraz w farmacji.

Saponiny wykazują aktywność przeciwbakteryjną, przeciwzapalną, przeciwnowotworową, cytotoksyczną, przeciwwirusową. Natomiast ze względu na swoją toksyczność w różnych organizmach zwierzęcych mogą być wykorzystywane do produkcji środków owadobójczych, grzybobójczych oraz pierwotniakobójczych.

(Milgate i Roberts, 1995; Atopkina i in., 1999; Mimaki, Kuroda, Asano i Sashi, 1999a; Rao i Gurfinkel, 2000; Sirtori, 2001; Francis, Kerem, Makkar i Becker, 2002; Sparg i in., 2004; Bonaccorsi i in., 2008; Cheong i in., 2018).

Zróżnicowana budowa chemiczna saponin triterpenowych i steroidowych różnie wpływa na właściwości biologiczne tych związków, które są tematem lawinowo rosnącej liczby publikacji w ostatnich latach.

Jak dotąd, u roślin wyższych zostało zidentyfikowanych około 100 tys. metabolitów (naturalnych związków roślinnych), przy czym ocenia się, że ta liczba może stanowić tylko około 10% wszystkich naturalnych związków w roślinach (Muth, Kachlicki i Stobiecki, 2007). Szacuje się, że co najmniej 85% z 250 tys. gatunków roślin wyższych na świecie nie zostało w pełni zbadanych pod względem potencjalnych właściwości biologicznych (Balandrin, Kinghorn i Farnsworth, 1993), w tym na odkrycie czeka jeszcze wiele saponin, których działanie biologiczne dla człowieka może być obiecujące. Przykładem są omawiane w niniejszej pracy saponiny triterpenowe wyizolowane z różnych części i odmian korzeni buraka ćwikłowego, które dekadę temu nie były jeszcze zidentyfikowane i opisane w literaturze jako naturalne substancje buraka ćwikłowego, a ich wstępna identyfikacja jakościowa potwierdza dużą różnorodność struktur chemicznych. Dodatkowo działanie prozdrowotne saponin triterpenowych wyodrębnionych z korzeni buraka ćwikłowego stwarza obiecującą perspektywę w projektowaniu nowej prozdowotnej żywności, jak również daje możliwość wykorzystania odmian o największej zawartości saponin triterpenowych do produkcji żywności funkcjonalnej i nutraceutyków.

Obecnie szacuje się, że związki pochodzenia naturalnego stanowią 25% składu leków recepturowych (Oleszek, 2009). Na liście rankingowej 25 najlepiej sprzedających się leków na świecie ponad połowa zawiera roślinne metabolity wtórne, stanowiące takie substancje, jak inhibitory ACE, kaptopryl i enalapryl, naproxen i diclofenac (jako niesterydowe środki przeciwzapalne), antybiotyki (β2-agonista salbutamol, amoxycylina/kwas klawulanowy) oraz cyklosporyna (lek immunosupresyjny) (Philipson, 2007). Newman oszacował, że około 60% leków dostępnych w 2008 roku zostało otrzymanych z produktów naturalnych (Newman, 2008).

Właściwości farmakologiczne saponin są szeroko omawiana w wielu pracach naukowych, ze wskazaniem ich praktycznego zastosowania w przemyśle farmaceutycznym i medycznym oraz perspektyw w projektowaniu nowych leków pochodzenia naturalnego. Metabolity wtórne roślin, w tym saponiny zarówno triterpenowe, jak i steroidowe, które wykazują właściwości biologiczne, są stosowane jako naturalne matryce w syntezie chemicznej tworzenia leków (Oleszek, 2009).

Dla przemysłu farmaceutycznego największe zainteresowanie budzą związki, które wykazują właściwości przeciwnowotworowe. Związki te występują zwykle w bardzo małych ilościach w roślinie.

Działanie cytotoksyczne

Liczne doniesienia wskazują na działanie cytotoksyczne wielu saponin, jednak nie wszystkie saponiny mają wysoką cytotoksyczność i właściwości przeciwnowotworowe (Singh i in., 2017).

Jak wynika z prac przedstawionych w literaturze, działanie cytotoksyczne wielu saponin zależy od ich budowy chemicznej, która determinuje hydrofilowość cząsteczek saponin i jej zdolność wchłaniania do komórek lub wiązania się z błoną komórkową (Milgate i Roberts, 1995; Atopkina i in., 1999). Według Bonaccorsi i współpracowników (2008) aktywność antynowotworowa triterpenoidów, takich jak kwas ursolowy (aglikon wielu saponin triterpenowych) i triterpeny pentacykliczne, polega na hamowaniu aktywności odwrotnej transkryptazy (ang. *reverse transcriptase*, RT), biorącej udział w kontroli proliferacji oraz różnicowaniu komórek nowotworowych (Bonaccorsi i in., 2008). Wyniki tych autorów pokazują, że kwas ursolowy hamuje proliferację komórek nowotworowych w sposób zależny od dawki i czasu. Sarikahya i współpracownicy (2018) wskazują na związek pomiędzy budową saponin a ich działaniem przeciwnowotworowym i cytotoksycznym. Autorzy wykazali, że spośród 19 wyizolowanych saponin z roślin *Cephalaria* monodesmozydy saponin, których aglikonem jest hederagenina, wykazują największe działanie cytotoksyczne i przeciwnowotworowe. Autorzy sugerują, że aktywność biologiczna saponin jest zależna głównie od liczby i rodzaju łańcuchów cukrowych saponin i w mniejszym stopniu od rodzaju aglikonu, wskazując na monodesmozydy saponin, jako związki o większej aktywności biologicznej niż bidesmozydy saponin.

Mimaki i współpracownicy (1999a) określili aktywność cytotoksyczną dziewięciu saponin triterpenowych wyizolowanych z korzeni sasanki chińskiej *Pulsatilla chinensis*. Wszystkie badane saponiny wykazywały umiarkowaną aktywność cytotoksyczną z IC_{50} od 2,3 do 7,8 g/ml, z wyjątkiem jednej saponiny, która nie miała podstawnika przy C-2 (reszty cukrowej – arabinozy, pięciowęglowego monosacharaydu przyłączonej do aglikonu). Wyniki badań wskazują na to, że reszty glikozydowe przyłączonego do C-3 aglikonu mają zasadnicze znaczenie w aktywności cytotoksycznej saponin triterpenowych (Mimaki i in., 1999a).

W odróżnieniu od saponin triterpenowych Mimaki i współpracownicy (1999b) badali dziewięć występujących saponin steroidowych w roślinie *Dracaena draco* (drzewo smocze), z czego pięć nowych saponin wyizolowano z części nadziemnych tej rośliny, a tylko dwie saponiny wykazywały właściwości cytotoksyczne w stosunku do ludzkich linii komórek białaczki szpikowej HL-60. Aktywność cytotoksyczna tych saponin wynosiła IC50 = 2,6 g/ml i 1,3 g/ml (Mimaki i in., 1999b). Saponiny triterpenowe również wykazują aktywność cytotoksyczną w stosunku do ludzkich linii komórkowych. Nowa saponina wyizolowana z kory korzeni rośliny *Aralia dasyphylla* (Araliaceae) wykazuje istotną aktywność cytotoksyczną wobec linii

komórkowej KB i HeLa-S_3. Aktywność cytotoksyczna tej saponiny została określona wartością IC50 = 1,2 g/ml dla linii komórkowej KB i IC50 = 0,02 g/ml dla HeLa-S3 (Xiao i in., 1999).

Działanie cytotoksyczne saponin wyizolowanych z soi zostało opisane przez zespół naukowców Oh i Sung (2001), którzy wskazali jednocześnie na przeciwnowotworowe działanie (głównie dotyczące raka jelita grubego HT-29) saponin sojowych. Mechanizm działania saponin sojowych polega m.in. na hamowaniu aktywności kinazy białkowej C (PKC) (ang. *protein kinase* C) (Oh i Sung, 2001). Inny zespół naukowców wykazał, że saponiny sojowe zmniejszają ryzyko powstania nowotworu okrężnicy poprzez hamowanie reakcji zapalnych (Kim, Yu, Kim, Kim i Sung, 2004).

Działanie przeciwzapalne

W wielu preparatach farmaceutycznych o działaniu przeciwzapalnym, przeciwobrzękowym i naczyniowym główną substancją aktywną jest escyna (Sirtori, 2001; Cheong i in., 2018). Mieszanina saponin wyizolowana z drzewa kasztanowca *Aesculus hippocastanum* L. jest zaliczana pod względem budowy chemicznej do saponin triterpenowych, a w składzie preparatów leczniczych pod wspólną nazwą escyna są również zawarte flawonoidy i kumaryny wyodrębnione z tej samej rośliny (Gruza, Jatczak, Zagrodzki, Filip i Grynkiewicz, 2015). Lek zawierający escynę (np. Venitan lub Escin) jest stosowany w leczeniu żylaków, kruchości naczyń kapilarnych oraz w kosmetyce. Mimo że dokładny mechanizm działania escyny nie został jak dotąd poznany, preparaty zawierające escynę podlegają rejestracji (tradycja etnofarmakologiczna) (Gruza i in., 2015). Według ostatnich doniesień literaturowych escyna wykazuje działanie przeciwnowotworowe (nowotwory płuc, wątroby, białaczka) oraz zwiększa działanie leków chemioterapeutycznych. Działanie escyny polega głównie na hamowaniu proliferacji, ponadto wykazuje działanie proapoptotyczne (Cheong i in., 2018).

Działanie przeciwbakteryje

Właściwości przeciwbakteryjne saponin triterpenowych zostały opisane w wielu doniesieniach naukowych (Cuellar i in., 1997; Killeen i in., 1998; Konishi i in., 1998; Sparg i in., 2004; Oloyede, Ajiboye, Salawu i Ajiboye, 2017). Poznanie działania antybakteryjnego saponin triterpenowych stwarza możliwość ich zastosowania w lekach (antybiotykach), które mogłyby wykazywać silne działanie bakteriobójcze. Badano właściwości antybakteryjne kwasu oleanolowego i ursolowego wobec takich szczepów, jak: Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 i ATCC 29213, Enterococcus faecalis ATCC 29212 i Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, oraz grupę izolatów klinicznych opornych na antybio-

tyki Escherichia coli (wytwarzający penicylinazę), Enterococcus faecium i faecalis (odpowiednio oporne na wankomycynę i teikoplaninę). Autorzy wykazali, że zarówno kwas oleanolowy, jak i ursolowy hamowały namnażanie się badanych bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich, z tym że większą zdolność hamowania wzrostu bakterii wykazywał kwas ursolowy niż oleanolowy. Natomiast oba kwasy nie wykazywały hamowania wzrostu badanych izolatów (Fontanay, Grare, Mayer, Finance i Duval, 2008).

2.4. Metabolity wtórne a smak buraków i ich przetworów

Nowe odmiany buraka ćwikłowego, takie jak Chrobry, Nochowski, Noe czy Turkus, charakteryzują się wysoką zawartością barwników betalainowych i jednocześnie smakiem gorzkim. Barwniki te są wtórnymi metabolitami roślin *B. vulgaris*. Nie można wykluczyć, że biosyntezie betalain towarzyszy biosynteza innych substancji, w tym o smaku gorzkim.

Odmiany korzeni buraka ćwikłowego o wysokiej zawartości barwników betalainowych i jednocześnie gorzkim smaku, które analizowano w niniejszej pracy, są stosowane w przemyśle spożywczym do produkcji m.in. czipsów buraczanych w firmie FPH Paula w Kaliszu, a także koncentratów i soków buraczanych zagęszczonych w firmie VIN-KON S.A. w Koninie, która specjalizuje się w produkcji soku buraczanego o wysokiej zawartości barwnika betaniny i niskim poziomie azotanów. Koncentrat buraka ćwikłowego stosuje się jako dodatek do zup, soków owocowo-warzywnych, lodów, deserów, makaronów i marynat. Odmiany gorzkie buraka ćwikłowego charakteryzują się dużą zawartością barwników betalainowych, dlatego są odmianami pożądanymi przez przemysł spożywczy. Z powodu smaku odmiany te mają jednak ograniczone zastosowanie w przetwórstwie.

Jak wynika z badań własnych autorki, barwniki betalainowe nie wykazują smaku gorzkiego. Betalainy z korzeni buraków ćwikłowych wyizolowano, oczyszczono i rozdzielono na dwie grupy, tj. betacyjaniny i betaksantyny, wykorzystując metodę ekstrakcji do fazy stałej SPE. Frakcje rozdzielonych barwników identyfikowano metodą HPLC-MS oraz określono ich zawartość metodą spektrofotometryczną. Następnie przeprowadzono ocenę sensoryczną osobno dla frakcji betacyjanin i betaksantyn, która nie wykazała smaku gorzkiego. Do tej pory brakuje doniesień literaturowych wyjaśniających, jakie składniki powodują smak gorzki buraka ćwikłowego, oraz dowodzących zróżnicowania odmian pod względem cech goryczkowych. Najczęściej są charakteryzowane pojedyncze odmiany w kontekście takich wyróżników sensorycznych jak smakowitość, barwa, zapach itp. Zróżnicowanie pod względem smaku gorzkiego w różnych częściach buraka ćwikłowego opisali

Biegańska-Marecik, Czapski i Błaszczyk (2007). Autorzy ci wykazali, że najbardziej gorzkimi częściami korzeni są skóra, głowa i nasada korzenia, a najmniej gorzki jest miąższ, jednak nie wyjaśnili, które z naturalnie występujących metabolitów wtórnych korzeni buraka ćwikłowego odpowiadają za smak gorzki. Obecnie brakuje prac opisujących również występowanie posmaku gorzkiego w burakach ćwikłowych. Ten walor smakowy korzeni buraka ćwikłowego jest szczególnie istotny dla konsumentów, ponieważ wyklucza z konsumpcji odmiany posiadające silny posmak goryczki.

Większość saponin występujących w świecie roślinnym jest gorzka (Sikorski, 2002). W 1996 roku w burakach cukrowych zostały wstępnie zidentyfikowane saponiny triterpenowe (Yoshikawa i in., 1996). Buraki cukrowe są blisko spokrewnione z burakami ćwikłowymi i należą do tej samej rodziny *Chenopodiaceae*, dlatego założono, że w burakach ćwikłowych mogą występować saponiny triterpenowe analogicznie do buraków cukrowych. Oprócz tego założono, że związki te przynajmniej częściowo powodują smak gorzki tego surowca i jego produktów. W literaturze brak jest informacji na temat saponin występujących jako substancje gorzkie buraka ćwikłowego. Według danych literaturowych saponiny triterpenowe nie zostały w pełni zidentyfikowane pod względem jakościowym i ilościowym w tym surowcu. Nie wiadomo również, jaką rolę odgrywają w roślinach *B. vulgaris*. Doniesienia literaturowe nie wskazują na rodzaj saponin, jakie występują w burakach ćwikłowych, jak również nie opisują składu mieszanin saponin triterpenowych w burakach ćwikłowych. Jedyną wzmianką jest informacja, że burak ćwikłowy jest warzywem zawierającym saponiny, które są grupą związków naturalnych o charakterze glikozydów bezazotowych (Jerzmanowska, 1967).

Większość produktów z buraka ćwikłowego jest spożywana po jego przetworzeniu. W literaturze nie wyjaśniono problemu, czy substancje gorzkie korzeni buraka ulegają przemianom w czasie obróbki termicznej surowca, czy też nie. Większość gotowych produktów z buraków ćwikłowych jest przechowywana po ich wyprodukowaniu. W czasie przechowywania smak gotowych produktów może ulec zmianie w wyniku degradacji substancji naturalnych zawartych w surowcu. Nie wiadomo, czy związki gorzkie buraka ćwikłowego ulegają degradacji, czy też są stabilne w czasie przechowywania. Wyniki badań własnych dotyczących zmian smaku gorzkiego w czasie obróbki termicznej surowca oraz po przechowywaniu opisano w dalszych rozdziałach niniejszej mongrafii.

Związki polifenolowe, obok betalain i saponin triterpenowych, stanowią grupę wtórnych metabolitów występujących w burakach ćwikłowych. W literaturze można spotkać prace opisujące tę grupę metabolitów wtórnych jako wywołującą odczucie smaku gorzkiego żywności, jednak nie ma żadnych prac na temat wpływu związków fenolowych i flawonoidów na smak buraków ćwikłowych. Według Torszyńskiej (2004) związki polifenolowe będące substancjami bioaktywnymi roślin wpływają na jakość sensoryczną żywności. Autorka wymienia trzy grupy

związków fenolowych: kwasy fenolowe, flawonoidy oraz wysoko spolimeryzowane związki, przy czym wszystkie grupy mogą wpływać na odczucie gorzkości w produktach spożywczych (Torszyńska, 2004). Znane są flawonoidy, takie jak naryngina i kwercetyna, powodujące pożądane odczucie goryczy, odpowiednio grapefrutów (Ribeiro, Afonso, Vila-Real, Alfaia i Ferreira, 2010) oraz wina (Gonzalo-Diago, Dizy, i Fernández-Zurbano, 2014). W innych surowcach i produktach końcowych odczucie goryczy nie jest pożądane, zwłaszcza w sokach owocowych, warzywnych i ich przetworach, a klasyfikacja tych związków nierzadko nie jest możliwa, ponieważ w wielu przypadkach związki gorzkie nadal są nierozpoznane.

3. ANALIZA SENSORYCZNA BURAKA ĆWIKŁOWEGO I JEGO PRODUKTÓW

3.1. Metody stosowane w badaniach jakości surowca i produktów z buraka ćwikłowego

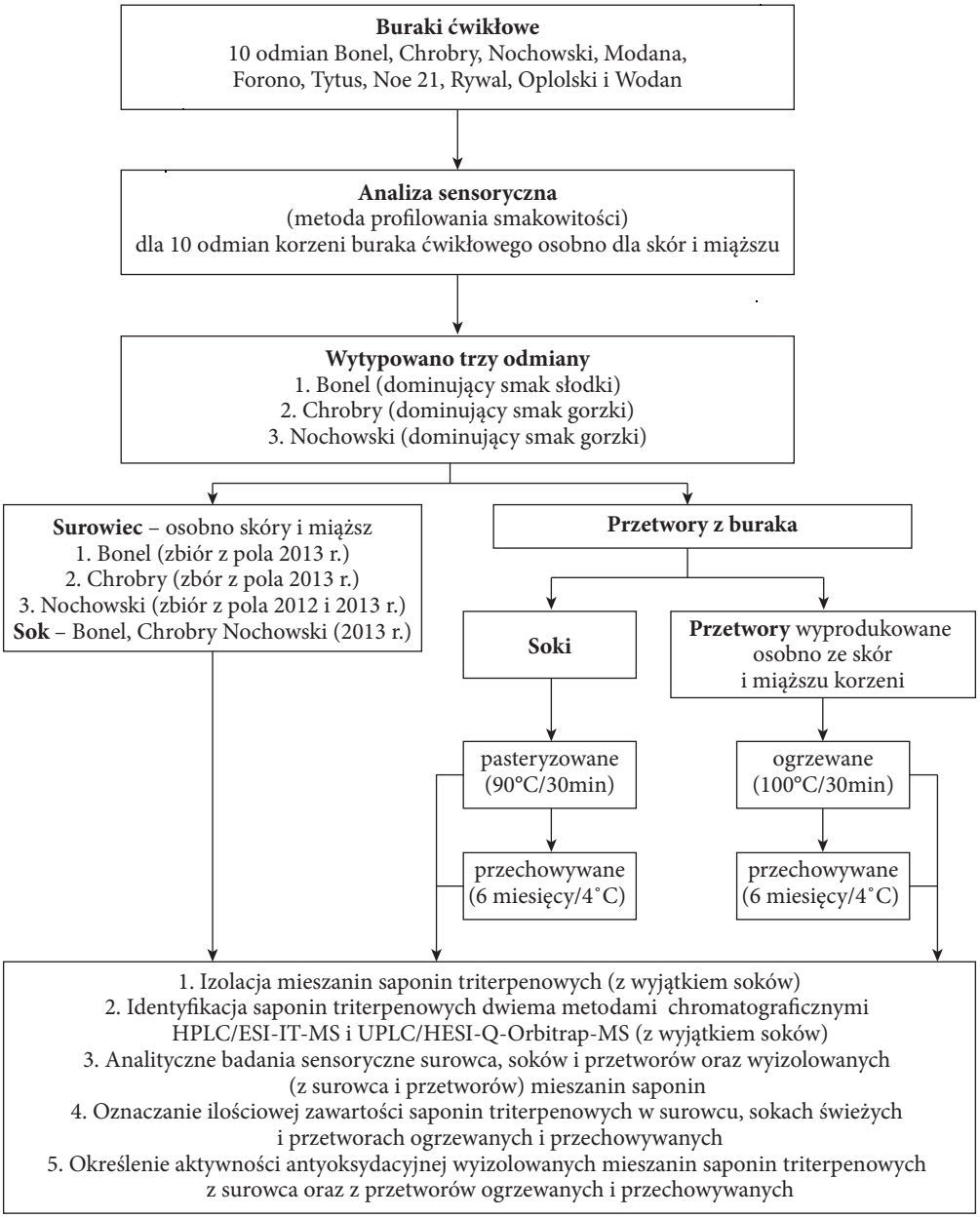
3.1.1. Materiał badany i schemat eksperymentu

Materiałem do badań były korzenie buraka ćwikłowego dziesięciu odmian: Bonel, Chrobry, Nochowski, Modana, Forono, Tytus, Noe 21, Rywal, Opolski i Wodan. Korzenie buraków ćwikłowych pochodziły ze Spójni Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze w Nochowie.

Schemat eksperymentu opisanego w monografii przedstawiono na rysunku 3. Surowiec do badań podzielono na dwie części – skórę i miąższ. Po przeprowadzeniu analiz sensorycznych (badano smak i posmak gorzki, słodki, cierpki, ziemisty i buraczany) spośród dziesięciu odmian wybrano trzy odmiany do dalszych, wieloetapowych i czasochłonnych izolacji związków gorzkich i identyfikacji tych związków dwiema metodami chromatograficznymi z wykorzystaniem niskorozdzielczego i wysokorozdzielczego spektrometru mas (HPLC/ESI-IT-MS i UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS), jak również do analitycznych badań sensorycznych surowca, jego przetworów i wyizolowanych z nich mieszanin saponin triterpenowych.

Izolację i oczyszczanie wyizolowanej mieszaniny saponin triterpenowych z różnych odmian i części korzeni buraków ćwikłowych przeprowadzono, stosując chromatografię kolumnową oraz ekstrakcję do fazy stałej SPE (rysunek 4). Izolację saponin przeprowadzono ze świeżych odmian buraka ćwikłowego oraz z ich przetworów ogrzewanych i przechowywanych otrzymanych z tych samych odmian buraka. Przetwory buraka zostały wyprodukowane w skali laboratoryjnej. Równocześnie z izolacją i identyfikacją związków gorzkich z buraków ćwikłowych trzech odmian (Bonel, Chrobry i Nochowski) przeprowadzono analityczne badania sensoryczne surowca, produktów otrzymanych z tego surowca (soków

i przetworów ogrzewanych i przechowywanych) i wyizolowanych mieszanin saponin oraz określono aktywność antyoksydacyjną wyizolowanych mieszanin saponin.



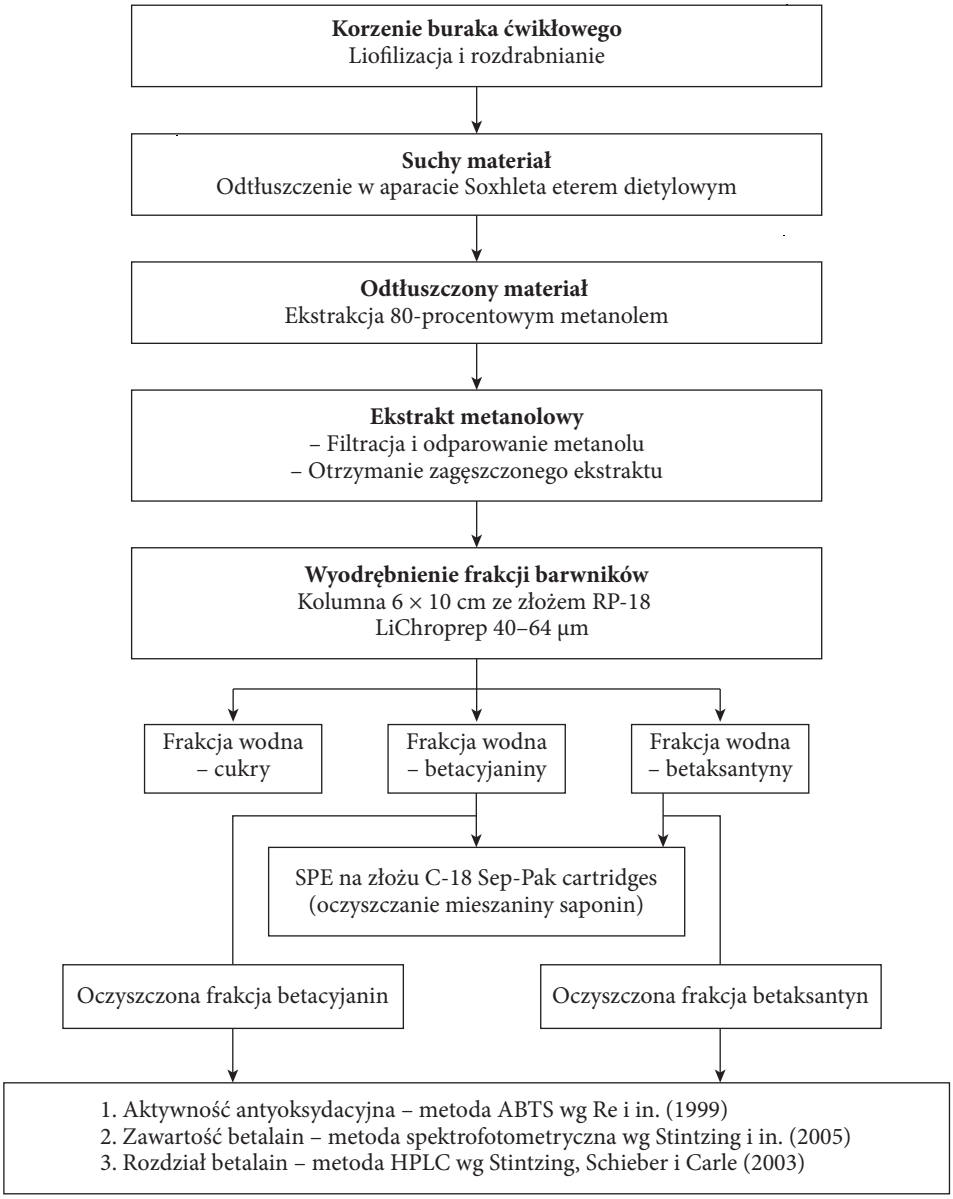
Rysunek 3. Schemat eksperymentu

Przetwory z buraka ćwikłowego otrzymano osobno ze skór i miąższu danej odmiany. Przetworami były ogrzewane buraki tarte (100˚C/30 min.) i przechowywane (6 miesięcy/4˚C) po uprzednim ogrzewaniu.

Dodatkowo ilościową zawartość saponin określono w sokach, miąższach, skórach i wytłokach w sześciu odmianach buraków (Bonel, Chrobry, Nochowski, Modana, Forono, Tytus). Porównano skład jakościowy saponin triterpenowych jako związków gorzkich buraka ćwikłowego w trzech odmianach (Bonel, Chrobry, Nochowski) pochodzących z sezonu wegetacyjnego 2013 roku oraz jednej odmiany Nochowski pochodzącej z sezonu wegetacyjnego 2012 roku. Na podstawie przeprowadzonej analizy sensorycznej wyznaczono progi rozpoznania smaku gorzkiego wyizolowanych mieszanin saponin (najniższe stężenie smaku gorzkiego mieszanin saponin, które było możliwe do identyfikacji) z trzech odmian korzeni buraków (osobno ze skór i z miąższów) i porównano je z progowym stężeniem wzorca substancji gorzkiej kofeiny oraz nowo zaproponowanego wzorca smaku gorzkiego dla saponin – soyasaponin I (gorzkiej saponiny).

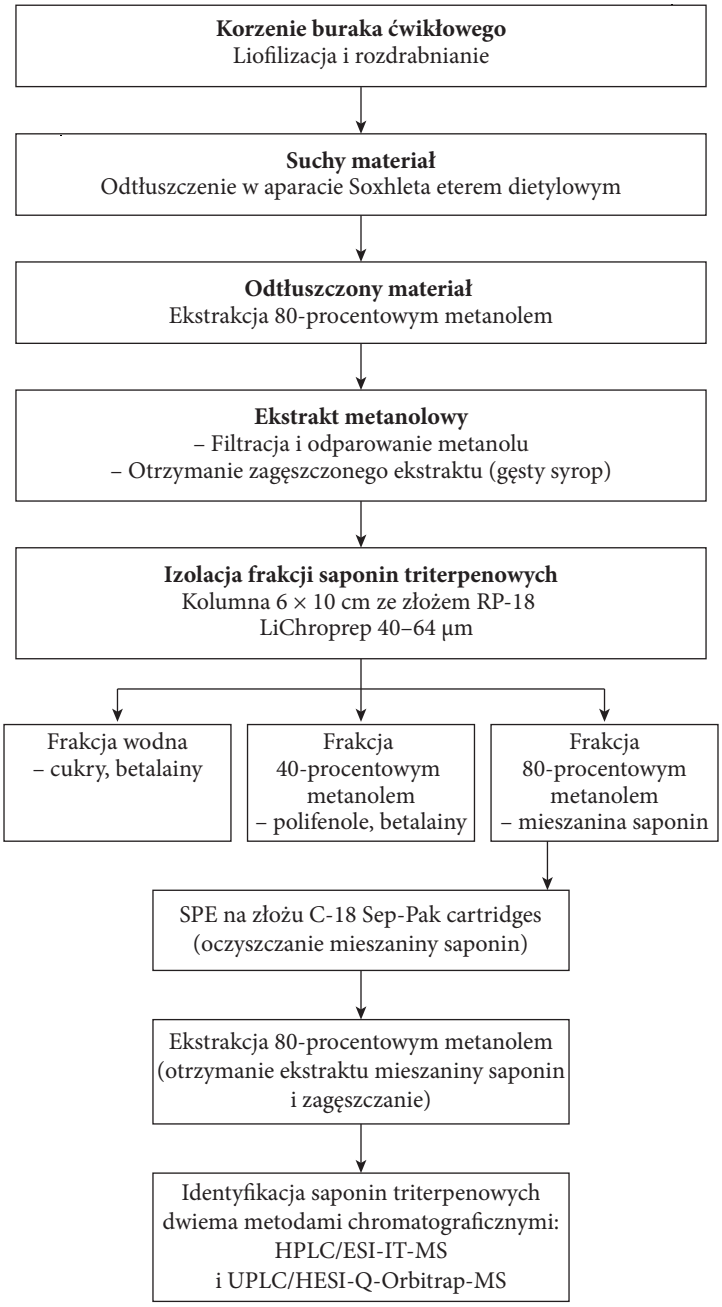
3.1.2. Izolacja metabolitów wtórnych z korzeni buraka ćwikłowego

W celu wyodrębniania zarówno mieszanin saponin, jak i barwników betalainowych opracowano własną procedurę izolacji i oczyszczania tych związków z korzeni buraka ćwikłowego. Saponiny triterpenowe mają złożoną budowę chemiczną, zatem do uzyskania dobrze oczyszczonych prób, pozbawionych wszystkich substancji, które zawiera w swoim składzie burak ćwikłowy, np. tłuszczy, białek, barwników betalainowych i polifenoli, wymagane było opracowanie i zastosowanie wieloetapowej i czasochłonnej procedury izolacji i oczyszczania. Poniżej zostały omówione poszczególne etapy izolacji i oczyszczania saponin triterpenowych zawartych w korzeniach buraka ćwikłowego (rysunek 4). Do rozdziału barwników fioletowych betacyjanin od barwników żółtych betaksantyn, zastosowano tę samą metodykę, z tą różnicą, że barwniki w czasie ekstrakcji do fazy stałej SPE wymywano metanolem 40-procentowym (rysunek 4), a nie 80-procentowym, jak w przypadku wymywania saponin triterpenowych.



Rysunek 4. Schemat otrzymywania barwników betalainowych buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.)

Źródło: Badania własne: (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016).



Rysunek 5. Schemat otrzymywania saponin triterpenowych buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.)

Źródło: Badania własne: (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).

Opis etapów izolacji i oczyszczania mieszanin saponin z korzeni buraka ćwikłowego

Otrzymanie odtłuszczonego ekstraktu z buraka ćwikłowego

Świeże korzenie podzielone na skórę i miąższ zliofilizowano, następnie zmielone części korzeni buraka odtłuszczano eterem dietylowym w aparacie Soxhleta. Ekstrakcje prowadzono w ciągu 18 godzin.

Do wyodrębnienia saponin triterpenowych z korzeni buraka zastosowano ekstrakcję wielokrotną wspomaganą ultradźwiękami. Zliofilizowany, odtłuszczony i rozdrobniony materiał roślinny zalewano wielokrotnie, za każdym razem świeżą porcją 80-procentowego metanolu. Stosunek masowy liofilizatu do metanolu wynosił 1:10, a czas ekstrakcji 6 godzin, temp. 20°C. Otrzymany ekstrakt oddzielano od tkanek roślinnych przez sączenie, następnie zagęszczono na wyparce wysokoobrotowej, otrzymując gęsty surowy syrop, który wymagał oczyszczania.

Znacznym utrudnieniem w chromatografii cieczowej HPLC przy identyfikacji saponin (związków pozbawionych chromoforów, a więc nieposiadających podwójnych wiązań w cząsteczce) jest fakt, że rejestracji profili chromatograficznych dokonuje się przy długości fali detektora 205–210 nm, czyli jest to przedział, w którym absorbuje wiele substancji chemicznych. W celu uniknięcia błędu w identyfikacji przy analizie chromatograficznej saponin bardzo ważne było przygotowanie wyodrębnionego ekstraktu saponin z korzeni buraka ćwikłowego poprzez oczyszczenie analizowanych związków z innych składników występujących w ekstrakcie.

Takie możliwości daje ekstrakcja do fazy stałej (ang. *solid phase extraction*, SPE) i frakcjonowanie ekstraktu na tej fazie (Oleszek, 2009).

Oczyszczanie ekstraktu – chromatografia kolumnowa

Na pierwszym etapie oczyszczania gęstego syropu buraczanego zastosowano chromatografię kolumnową na złożu LiChroprep RP 40–63 μm, otrzymując wstępnie oczyszczoną frakcję saponin. Złoże LiChroprep RP 40–63 μm (50g) firmy Merck zalano roztworem metanolu i wlano do kolumny szklanej (6 × 10 cm) połączonej z kolbą ssawkową i pompką wodną. Tak przygotowane złoże w kolumnie kondycjonowano przepuszczając w kolejności czysty metanol następnie 80-, 40- i 20-procentowy metanol i wodę destylowaną. Zagęszczony ekstrakt (syrop buraczany punkt powyżej) naniesiono na złoże LiChroprep RP 40–63 μm i eluowano wodą destylowaną (wymyto cukry, fioletowe i żółte barwniki), 40-procentowym MeOH (wymyto barwniki i związki wysokocząsteczkowe) oraz 80-procentowym MeOH (wymyto mieszaninę saponin). Na koniec złoże przemyto czystym metanolem. Otrzymaną frakcję mieszaniny saponin zagęszczano na wyparce próżniowej i poddano dalszym etapom oczyszczania.

Oczyszczanie frakcji saponin – ekstrakcja do fazy stałej SPE (SPE *solid phase extraction*)
Na drugim etapie frakcję saponin oczyszczano poprzez ekstrakcje do fazy stałej na kolumienkach Sep-Pak C-18. Na kolumny Sep-Pak C18 nanoszono uprzednio wyodrębnioną na złożu LiChroprep RP 40–63 μm i zagęszczoną na wyparce pod zmniejszonym ciśnieniem frakcję saponinową, którą eluowano 80-procentowym metanolem. Metoda ta umożliwiała stosunkowo łatwe oczyszczenie i jednoczesne odbiałczenie eluatu. Przed oczyszczeniem frakcji saponin kolumienkę Sep-Pak (cartridges 5g) firmy Waters kondycjonowano metanolem i wodą. Kolumienkę przemywano w kolejności: wodą, 40- i 80-procentowym MeOH. Wypływające frakcje o objętości odpowiednio 40, 15 i 80 cm^3 zbierano do zlewek szklanych. W eluacie wypływały kolejno: wymyte wodą frakcje żółte (cukry), fioletowe (betacyjaniny, czyli barwniki fioletowe), za nimi frakcje żółte (betaksantyny), następnie zostały wymyte 40-procentowym MeOH frakcje zawierające zarówno cukry, jak i betalainy, jako przedostatnie zostały wymyte 80-procentowym MeOH frakcje zawierające mieszaninę saponin. Na końcu przemyto kolumnę czystym metanolem.

Frakcję wymytą 80-procentowym MeOH zawierającą mieszaninę saponin zagęszczono na wyparce próżniowej, odwirowano (15 min 4600 obr./min). Wszystkie frakcje zawierające oczyszczone mieszaniny saponin analizowano równolegle dwiema metodami chromatograficznymi. Schemat otrzymywania saponin triterpenowych buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) ilustruje rysunek 5.

3.1.3. Identyfikacja saponin triterpenowych z roślin *Beta vulgaris*

Analizy dotyczące identyfikacji saponin triterpenowych wyizolowanych z korzeni buraków ćwikłowych przeprowadzono w Instytucie Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Identyfikacje wyizolowanych i oczyszczonych saponin w ich mieszaninie przeprowadzono dwiema metodami chromatograficznymi, stosując wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) połączoną z tandemowym spektrometrem mas (MS/MS^n) (HPLC/ESI-IT-MS) oraz ultrasprawną chromatografię cieczową (UPLC) połączoną ze spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap (UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS).

HPLC/ESI-IT-MS
Identyfikacja poszczególnych związków polegała na rozdziale chromatograficznym HPLC-MS, przeprowadzeniu serii fragmentacji jonów pseudomolekularnych i w konsekwencji uzyskaniu wartości *m/z* aglikonu każdej saponiny. Analizy HPLC-MS przeprowadzono w jonizacji ujemnej. Spektrometria mas z zastoso-

waniem pułapki jonowej umożliwiła określenie fragmentacji cząsteczek saponin. Fragmentacje poszczególnych saponin z korzeni buraka przedstawiono w publikacji Mikołajczyk-Bator i in. (2016a). Bezpośrednio przed analizą próbkę suchego ekstraktu rozpuszczano w 25-procentowym acetonitrylu, następnie po uprzednim przefiltrowaniu przez filtr strzykawkowy Millex LCR firmy Millipore o średnicy porów 0,45 µm poddano analizie chromatograficznej. Do analiz zastosowano wysokosprawny chromatograf cieczowy (Agilent 1100, Waldbronn, Germany) połączony ze spektrometrem masowym (MS) ze źródłem jonów typu elektrosprey (ESI) oraz z analizatorem w postaci pułapki jonowej (Esquire 3000, Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS

W celu określenia składu elementarnego saponin triterpenowych przeprowadzono pomiar masy molowej z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku przy pomocy wysokorozdzielczego spektrometru mas HR MS (ang. *high resolution mas spectrometry*). Analizy prowadzono w ultrasprawnym chromatografie cieczowym (UPLC, Acquity, Waters, Milford, MA, USA) połączonym z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap (Q Exactive™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) w celu określenia składu elementarnego analizowanych związków. Rozdział analityczny HPLC prób przeprowadzano na kolumnie XBridge C18 (150mm × 2,1 mm, 3,5 µm, Waters); rozdział UPLC przeprowadzono na kolumnie BEH C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,7 µm, Waters). Spherisorb, z fazą stacjonarną oktadecylosilanową (ODS) o 18 atomach węgla w łańcuchu alkilowym (C_{18}), o wymiarach 4,6 mm × 250 mm i średnicy ziaren wypełnienia 5µm, w odwróconym układzie faz RP (ang. *reversed phase*). Warunki analiz chromatograficznych opisano w publikacji (Mikołajczyk-Bator i in., 2016a). Do rozdziału HPLC i UPLC stosowano fazę A o składzie woda z 0,1-procentowym dodatkiem kwasu mrówkowego i B o składzie acetonitryl. Rozdział HPLC przeprowadzono według następującego programu: inicjująco 10% B, 5 minuta 25% B, 50 minuta 37% B, 55 minuta 95% B, 63 minuta 95% B, 64 minuta 10% B. Rozdział UPLC przeprowadzono według następującego programu: inicjująco 10% B, 1 minuta 25% B, 10 minuta 37% B, 12,5 minuta 95% B, 13 minuta 95% B, 14 minuta 10% B. Ustawienia spektrometru mas z pułapką jonową to: ciśnienie, przepływ i temperatura gazu w źródle jonów – 30 psi, 9 l/min i 310°C, odpowiednio; skimmer 1: –8 eV; skala skanu: 50–1500 *m/z*. Ustawienia spektrometru wysokorozdzielczego z detektorem typu orbitrap: napięcie w sprayu, temperatura kapilary i temperatura gazu omiatającego kapilarę: –2,5 kV, 250°C i 400°C, odpowiednio; energia kolizyjna – 15eV; rozdzielczość: 70 000 m/z/s; skala skanu: 100–1200 *m/z*.

3.1.4. Oznaczanie ilościowej zawartości saponin triterpenowych

Analizy dotyczące oznaczania ilościowej zawartości saponin triterpenowych wyizolowanych z korzeni buraka ćwikłowego przeprowadzono we współpracy naukowej z Instytutem Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach.

Zliofilizowany materiał roślinny (ok. 100 mg s.m.) zmieszano z ziemią okrzemkową, a następnie ekstrahowano 70-procentowym metanolem w ogniwach ekstrakcyjnych ze stali nierdzewnej z wykorzystaniem przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem w aparacie ASE 200 (Dionex, Sunnyvale, CA). Ekstrakcje przeprowadzono przy 10 MPa, w temp. 40°C. Po ekstrakcji do każdego otrzymanego ekstraktu dodawano 61,5 µl roztworu wzorca wewnętrznego (0,65 mM digoksyny w 70-procentowym (v/v) metanolu, stężenie końcowe, 40 µM). Po odparowaniu do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem ekstrakty rozpuszczono w 1 ml 70-procentowego metanolu i przechowywano w –20°C. Przed analizami ekstrakty oczyszczano techniką ekstrakcji do fazy stałej SPE przy użyciu kolumienek (cartridges) 30 mg/3 cc Waters Oasis HLB cartridges (Waters, Milford, MA, USA) aktywowanych 3 ml roztworu metanolu i zrównoważonych 3 ml 5-procentowego (v/v) wodnego roztworu metanolu. Saponiny triterpenowe eluowano 6 ml 80-procentowego (v/v) roztworu metanolu, odparowano do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 35°C i ponownie rozpuszczono w 1 ml 30-procentowego (v/v) roztworu metanolu.

Analizy całkowitej zawartości saponin przeprowadzono metodą UHPLC-CAD--MS za pomocą chromatografu UHPLC Thermo Ultimate 3000 RS (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MS, USA) połączonego ze spektrometrem mas Bruker Impact II HD (Bruker, Billerica, MA, USA) z analizatorem mas typu kwadrupolowy analizator czasu przelotu (Q-TOF). Rozdziały chromatograficzne przeprowadzono na kolumnie Waters BEH C18 (2,1 × 100 mm, ziarno 1,7 µm). Fazę ruchomą A stanowił 0,05-procentowy (v/v) kwas trifluorooctowy (TFA), a fazę ruchomą B acetonitryl zawierający 0,05-procentowy (v/v) TFA. Anality rozdzielono, stosując gradient od 24% do 56% fazy B w ciągu 25 minut. Szybkość przepływu faz ruchomych wynosiła 0,4 ml/min, a temperatura kolumny 30°C. Pomiędzy kolejnymi nastrzyknięciami analitu, kolumnę zrównoważono 10 objętościami 24% fazy B. Objętość nastrzyku wynosiła 5 µl.

Identyfikację saponin przeprowadzono na podstawie danych uzyskanych z wysokorozdzielczego spektrometru mas HR-MS, przy użyciu techniki jonizacji elektrorozpylanie ESI w trybie jonów ujemnych. Widma liniowe (centroid) uzyskano w zakresie masy od *m/z* 160 do *m/z* 1600, stosując następujące parametry MS: częstotliwość pulsów 5 Hz; napięcie kapilarne 4,5 kV; przepływ suchego gazu 6 l/min; temperatura suchego gazu 200° C; ciśnienie nebulizatora 0,7 bar; RF 700,0 V; czas transferu 100,0 µs. Energia kolizyjna była automatycznie ustawiana od 20 do 120 eV w zależności od *m/z* fragmentowanego jonu. Uzyskane dane zostały wewnętrznie skalibrowane za pomocą trifluorooctanu sodu, który wprowadzono do źródła jonów przez 20 µl pętlę na początku każdego rozdziału.

Przetwarzanie widm przeprowadzono przy użyciu oprogramowania Bruker DataAnalysis 4.3.

Oznaczenia ilościowe saponin zostały określone na podstawie sygnałów z detektora wyładowań koronowych w aerozolu Corona CAD (ang. *charged aerosol detector* – CAD, Thermo Corona Veo RS). Rozdzielnik przepływu zastosowano, kierując wypływ z kolumny w stosunku 1 : 3 między spektrometrem mas wysokiej rozdzielczości typu Q-TOF (Bruker Impact II HD) i CAD, które połączono równolegle. Oznaczenia ilościowe oparte były na sygnałach CAD. Odpowiedź z detektora wyładowań koronowych CAD skalibrowano w zakresie od 1 do 75 μM, stosując serię rozcieńczeń 100 μM roztworu sojasaponiny Bb. Zależność sygnału pochodzącego od wzorca do stężenia wzorca wewnętrznego była nieliniowa dla całego zakresu kalibracji, w związku z tym zastosowano dwa różne zakresy kalibracji od 1 do 10 μM i od 10 do 75 μM. Dokładność i precyzję metody uzyskano, stosując próbki kontrolne o niskim i wysokim stężeniu zawierające ekstrakt liofilizatu miąższu buraka ćwikłowego odmiany Bonel, do którego dodano roztwór sojasaponiny Bb, w końcowych stężeniach odpowiednio 10 i 60 μM.

3.1.5. Analiza sensoryczna z udziałem zespołu oceniających

Właściwy wybór wyróżników smaku wymaga od osób dokonujących takiego wyboru dużej wrażliwości sensorycznej, spostrzegawczości oraz umiejętności wyrażania słownego, czyli właściwego opisu wrażeń poszczególnych deskryptorów. Ważnym elementem analizy opisowej było przygotowanie kandydatów do odpowiedniego słownego określenia i poprawnego definiowania cech (not) jednostkowych oraz prawidłowego posługiwania się skalą.

Analizę sensoryczną próbek soków, świeżych buraków tartych i jego przetworów ogrzewanych oraz przechowywanych, w odstępach siedmiodniowych, w czterech sesjach ocen (powtórzeniach) przeprowadzał 14-osobowy zespół oceniających przeszkolonych zgodnie z normami przedmiotowymi (PN-EN ISO 8586:2014–03). Norma PN-EN ISO 8586:2014–03 opisuje kryteria rekrutacji, jak również procedury szkolenia i monitorowania ekspertów oceny sensorycznej oraz wybranych oceniających. Oceny sensoryczne prowadzono w laboratorium analiz sensorycznych. Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej są zawarte w normie PN-EN ISO 8589:2010.

Wszystkie analizy zostały przeprowadzone w czterech powtórzeniach w różnych sesjach, dane opisano, podając odchylenie standardowe (±SD). Obliczeń dokonano za pomocą arkusza kalkulacyjnego Microsoft Excel. W celu statystycznego opracowania wyników przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA) i weryfikację hipotez przy zastosowaniu poziomu istotności (α = 0,05) za pomocą programu Statistica wersja 12.

Wybrani oceniający

Zespół 14-osobowy

W procesie wyboru i selekcji kandydatów do zespołu osób oceniających przeprowadzono testy sprawdzające wrażliwość sensoryczną kandydatów zgodnie z normą PN-ISO 3972:2016–07 dotyczącą smaku. Celem wstępnej selekcji kandydatów przeprowadzono test na daltonizm smakowy, w którym osoby kandydujące do zespołu były oceniane pod względem zdolności do rozpoznawania podstawowych wyróżników (deskryptorów) smaku. Testy zostały przeprowadzone zarówno na próbkach czystych substancji smakowych w roztworach wodnych, jak i na próbkach zawierających naturalne substancje obecne w napojach. Jak podaje Baryłko-Pikielna i Matuszewska (2009), używanie w tego typu testach próbek żywności naturalnej przygotowuje przyszły zespół osób oceniających do sytuacji, w której paneliści będą oceniać natężenie smaku w matrycy stanowiącej surowiec, półprodukt lub gotowy produkt spożywczy. Przyjmuje się, że zastosowanie testów z wykorzystaniem naturalnych produktów spożywczych daje lepsze wyniki co do prognozy przyszłych kandydatów w ocenianiu próbek rzeczywistych, stanowiących żywność naturalną (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009). Osoby, które prawidłowo rozpoznały oceniane smaki, zostały zakwalifikowane do dalszych testów sprawdzających wrażliwość sensoryczną kandydatów.

Na kolejnych etapach wyboru i szkolenia kandydatów na osoby oceniające sprawdzano ich wrażliwość sensoryczną, stosując metodę trójkątową (metoda różnicowa). Szczegóły dotyczące procedury postępowania przy określaniu istotnych różnic jednej cechy pomiędzy dwoma innymi próbkami przedstawiono w normie metody trójkątowej PN-EN ISO 4120:2007. Norma ta określa, czy występuje dostrzegalna sensorycznie różnica, czy podobieństwo pomiędzy próbkami dwóch produktów. Kandydatom przedstawiono do oceny zakodowane próbki wodnych roztworów substancji wzorcowych w celu sprawdzenia ich zdolności wykrywania różnicy stężeń. Kandydaci otrzymali zestaw trzech próbek i zostali poinformowani, że dwie przygotowane próbki były jednakowe i jedna odmmienna. Próbki A i B różniły się stężeniami wzorcowej substancji smakowej. Zadaniem osób oceniających było wskazanie, która próbka była odmienna. Wzorcową substancję gorzką stanowiła kofeina, substancję kwaśną – kwas cytrynowy, substancję słoną – chlorek sodu, słodką – sacharoza. Substancje te są podane jako wzorcowe w normie PN-EN ISO 8586:2014–03, natomiast przygotowane stężenia były stężeniami progowymi lub nieco ponadprogowymi, dla uchwycenia różnicy zmienności pomiędzy próbami.

Na podstawie metody trójkątowej wybrano 14 osób stanowiących zespół osób oceniających (wybrani oceniający). Zespół złożony z osób oceniających stanowił dziesięć kobiet i czterech mężczyzn w wieku 21–40 lat, o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej.

Zespół 11-osobowy
W celu określenia progu rozpoznawania smaku i intensywności smaku osób oceniających zastosowano metodę związaną z koncepcją **wartości progowych** (metoda wskaźnika rozcieńczenia N) (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009). Metoda ta jest oparta na koncepcji wartości progu rozpoznania. W metodach dotyczących określania progowych wartości wyróżnia się próg wyczuwalności (minimalne natężenie bodźca sensorycznego, które jest potrzebne do pojawienia się wrażenia, np. ledwo wyczuwalny smak, ale nie jest to smak wody, jednak bardzo trudny do zidentyfikowania) oraz próg rozpoznania (minimalne natężenie bodźca, które pozwala oceniającemu na identyfikację wrażenia, np. bardzo słaby smak gorzki). W przypadku określenia intensywności smaku gorzkiego przygotowano szereg wodnych roztworów kofeiny o stopniowo wzrastającym stężeniu: 0,15, 0,17, 0,19, 0,21, 0,23, 0,25, 0,27 i 0,29 [g/l]. Stężenie progowe dla kofeiny wynosi 0,195 g/l wg normy PN-ISO 3972:2016–07. Dawid i Hofmann (2014) w swoich badaniach zastosowali stężenie progowe kofeiny wynoszące 0,194 g/l.

Wybranym oceniającym podano do oceny próbki (wodne roztwory kofeiny) uszeregowane według wzrastających stężeń. Osoby oceniające zapisywały przy każdej próbce obecność smaku gorzkiego. Jeśli smak ten nie był wyczuwalny, kandydatom podawano następną próbkę, o wyższym stężeniu. Jeśli smak gorzki był wyczuwalny, kandydatom podawano ponownie próbkę o niższym stężeniu, wówczas, jeśli osoba testująca nie wyczuła smaku gorzkiego, podawano ponownie próbkę o wyższym stężeniu. W ten sposób ustalono wartość progową substancji gorzkiej, indywidualnie dla każdego oceniającego. Wybrano 11 osób do dalszych sensorycznych badań analitycznych opisanych w rozdziale 5, pkt 5.1.

3.1.6. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą pakietu Excel (Microsoft) oraz Statistica 12.0 (StatSoft Polska). W celu porównania wartości średnich przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic między wartościami średnimi wyznaczono za pomocą testu post-hoc Tukeya HSD (ang. *honestly significant difference*). Jako krytyczny poziom istotności przyjęto $\alpha = 0{,}05$.

Modelami regresji liniowej opisano zależności, jakie występują pomiędzy badanymi cechami (zmiennymi zależnymi: intensywnością cech goryczkowych korzeni buraka ćwikłowego lub aktywnością antyoksydacyjną wyizolowanych mieszanin saponin, i niezależnymi: całkowitą zawartością saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego). Siłę i kierunek zależności między badanymi cechami przedstawiono na wykresach rozrzutu oraz poprzez wyliczenie wartości współczynników korelacji liniowej Pearsona (r). Jakość dopasowania wyznaczonych

funkcji regresji do danych empirycznych przedstawiono za pomocą współczynnika determinacji (R^2) opisującego, jaka część ogólnej zmienności zmiennej zależnej jest wyjaśniona przez regresję liniową.

3.2. Zastosowanie metody analizy opisowej do klasyfikacji odmian korzeni buraka ćwikłowego na gorzkie i niewykazujące smaku gorzkiego

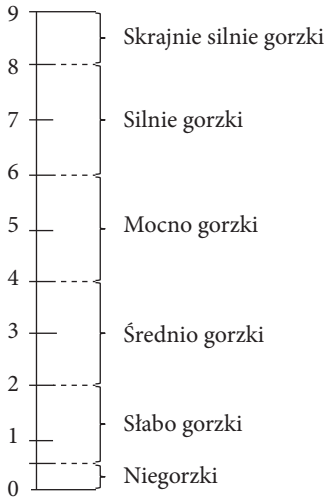
Podstawową wersją metody sensorycznej analizy opisowej jest ilościowa analiza opisowa (ang. *quantitative descriptive analysis*, QDA) (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009).

Metoda analizy opisowej (metoda profilowania smakowitości) dostarcza szczegółowej informacji na temat właściwości sensorycznych ocenianego surowca. Informacje te są przydatne przy określaniu wpływu procesu ogrzewania i przechowywania poszczególnych odmian buraka ćwikłowego na jakość gotowego produktu oraz przy śledzeniu relacji między jakością sensoryczną i akceptacją produktów otrzymanych z różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego przez konsumentów. W analizie opisowej oceniane atrybuty (np. smak, wygląd, zapach) są postrzegane jako zbiory elementarnych cech jednostkowych (deskryptorów jakości sensorycznej) możliwych do zdefiniowania, rozróżnienia i określenia intensywności każdej z nich (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009). Określenie i zidentyfikowanie poszczególnych deskryptorów jakości w ocenianym surowcu lub przetworach oraz wzajemne proporcje pomiędzy nimi umożliwiają dokładne przedstawienie i opisanie unikalnych cech jakości sensorycznej ocenianego produktu (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009). Jednym z najistotniejszych zadań, które decydują o jakości i przydatności otrzymanych w analizie opisowej wyników, jest wybór deskryptorów smaku.

Ocenianymi wyróżnikami jakości był smak gorzki, posmak gorzki (ang. *bitter aftertaste*) wyczuwalny dopiero po połknięciu próbki, smak słodki, cierpki, ziemisty i buraczany, według Polskiej Normy PN-EN ISO 13299:2010. W opisowej analizie smakowitości różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego i jego przetworów, oprócz oceny poszczególnych deskryptorów (wyróżników smaku) i ich intensywności, oceniano trwałość lub uporczywość wrażenia smakowego określanego posmakiem gorzkim oraz jego natężenie.

Z danych literaturowych wynika, że w złożonych mieszaninach smakowych, do których niewątpliwie należy sok z buraka ćwikłowego, jak i sam korzeń, badania percepcji gorzkiego smaku prowadzi się, wykorzystując skale hybrydowe (Kikut-Ligaj, 2015). W przeprowadzonych analizach sensorycznych do oceny intensywności

poszczególnych wyróżników smaku zastosowano 10-punktową skalę hybrydową w połączeniu ze skalą liniową z zakresem od 0 do 9 z zakotwiczonymi kategoriami, np. niegorzki (0–0,5), słabo gorzki (0,6–2), średnio gorzki (2,1–4,0), mocno gorzki (4,1–6,0), silnie gorzki (6,1–8,0), skrajnie silnie gorzki (8,1–9,0) (rysunek 6).



Rysunek 6. Skala hybrydowa łącząca zakresy skali liczbowej od 0 do 9 (10-punktowa) z zakotwiczonymi kategoriami (przykład kategorii smaku gorzkiego)

Źródło: Opracowanie własne i (Kikut-Ligaj, 2015).

Analizy sensoryczne przeprowadzano techniką przepłukiwania jamy ustnej, (ang. *sip-and-spit*) (Frank i in., 2008). Szkolenie prowadzono z udziałem próbek modelowych przy zastosowaniu skali. Każda osoba z zespołu osób oceniających dokładnie rozumiała konstrukcję i opis stosowanej skali liniowej z oznaczonymi określeniami brzegowymi wskazującymi kierunek zmian intensywności smaku. Taka umiejętność każdej osoby ilościowego wyrażenia badanego deskryptora poprzez prawidłowe zaznaczenie odcinka na skali liniowej pozwala na stwierdzenie, że kandydaci są wystarczająco przygotowani do przeprowadzania ocen sensorycznych (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009).

Podczas przeprowadzania ocen sensorycznych poszczególnych odmian korzeni buraka ćwikłowego i jego produktów przedstawiono osobom oceniającym etapy wykonania eksperymentu. Ważnym elementem prawidłowo przeprowadzonej metody analizy opisowej było określenie liczby osób oceniających i ocenianych próbek. W ocenach sensorycznych za każdym razem dokładnie w ten sam sposób przygotowywano próbki i prezentowano je zespołowi oceniającemu. Wszystkie analizy sensoryczne były przeprowadzone w czterech sesjach ocen (powtórzeniach), przypadających raz na tydzień.

Klasyfikację różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego przeprowadzono na podstawie analiz sensorycznych, które były wykonywane przez zespół osób oceniających wyselekcjonowany na podstawie testów szkoleniowych przeprowadzonych według Polskiej Normy PN-EN ISO 8586:2014–03, posiadający sprawdzoną i wysoką wrażliwość sensoryczną.

Tabela 5. Noty sensoryczne różnych deskryptorów smaku korzeni buraka ćwikłowego

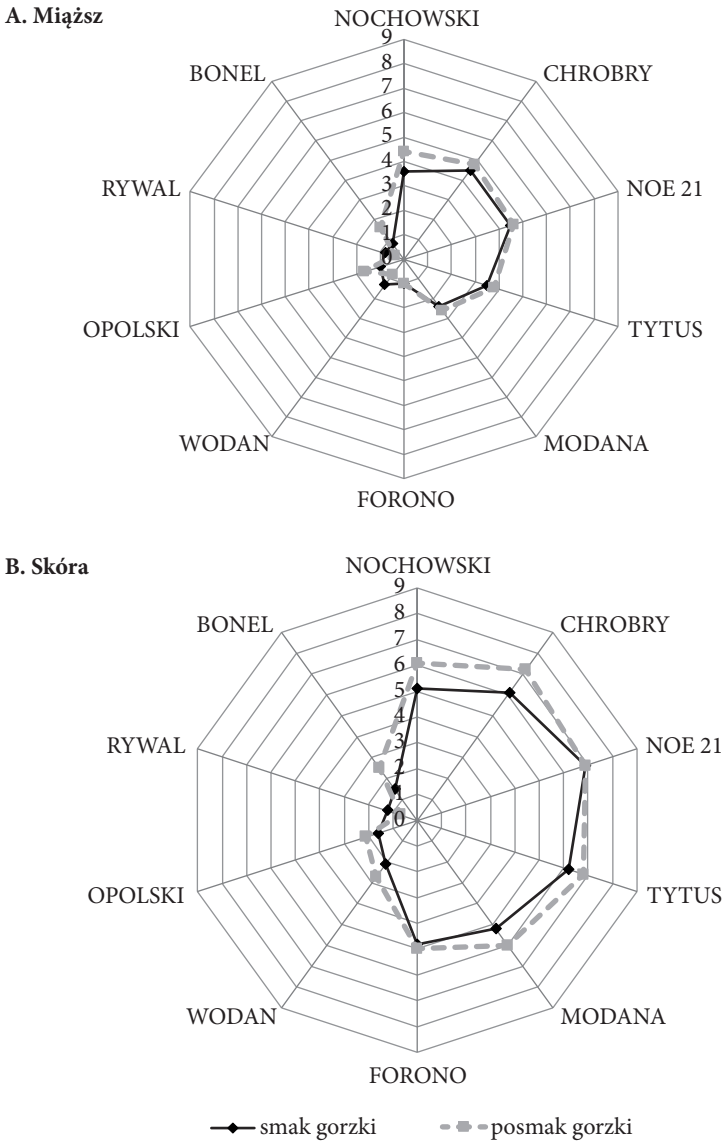
Odmiana buraka ćwikłowego	Część korzenia	Wyróżniki smaku					
		gorzki	posmak gorzki	słodki	cierpki	ziemisty	buraczany
Nochowski	miąższ	$3{,}5^{b} \pm 0{,}4$	$4{,}4^{c} \pm 0{,}5$	$3{,}1^{e} \pm 0{,}4$	$2{,}9^{c} \pm 0{,}3$	$2{,}1^{a} \pm 0{,}5$	$4{,}2^{b} \pm 0{,}4$
	skóra	$5{,}1^{c} \pm 0{,}4$	$6{,}1^{c} \pm 0{,}3$	$3{,}1^{f} \pm 0{,}4$	$4{,}7^{b} \pm 0{,}5$	$3{,}1^{c} \pm 0{,}4$	$3{,}5^{b} \pm 0{,}4$
Chrobry	miąższ	$4{,}5^{a} \pm 0{,}4$	$4{,}8^{a} \pm 0{,}4$	$3{,}3^{d} \pm 0{,}3$	$3{,}4^{a} \pm 0{,}5$	$1{,}8^{b} \pm 0{,}4$	$4{,}0^{b} \pm 0{,}4$
	skóra	$6{,}1^{b} \pm 0{,}3$	$7{,}2^{a} \pm 0{,}5$	$3{,}3^{e} \pm 0{,}4$	$5{,}1^{a} \pm 0{,}5$	$2{,}9^{d} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{b} \pm 0{,}4$
Noe 21	miąższ	$4{,}5^{a} \pm 0{,}3$	$4{,}6^{b} \pm 0{,}5$	$3{,}4^{d} \pm 0{,}5$	$2{,}6^{d} \pm 0{,}4$	$1{,}4^{c} \pm 0{,}3$	$3{,}6^{c} \pm 0{,}5$
	skóra	$6{,}9^{a} \pm 0{,}5$	$6{,}9^{b} \pm 0{,}6$	$2{,}3^{g} \pm 0{,}4$	$4{,}8^{b} \pm 0{,}5$	$4{,}0^{a} \pm 0{,}4$	$3{,}4^{b} \pm 0{,}6$
Tytus	miąższ	$3{,}5^{b} \pm 0{,}3$	$3{,}8^{d} \pm 0{,}3$	$1{,}5^{f} \pm 0{,}4$	$3{,}1^{b} \pm 0{,}5$	$2{,}1^{a} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{c} \pm 0{,}3$
	skóra	$6{,}2^{b} \pm 0{,}5$	$6{,}8^{b} \pm 0{,}4$	$3{,}4^{e} \pm 0{,}3$	$4{,}2^{c} \pm 0{,}4$	$3{,}2^{c} \pm 0{,}5$	$3{,}1^{c} \pm 0{,}6$
Modana	miąższ	$2{,}4^{c} \pm 0{,}4$	$2{,}6^{e} \pm 0{,}5$	$1{,}0^{g} \pm 0{,}4$	$2{,}6^{d} \pm 0{,}3$	$1{,}1^{d} \pm 0{,}3$	$4{,}2^{b} \pm 0{,}4$
	skóra	$5{,}2^{c} \pm 0{,}6$	$6{,}0^{c} \pm 0{,}3$	$3{,}2^{f} \pm 0{,}3$	$4{,}1^{c} \pm 0{,}5$	$2{,}3^{e} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{b} \pm 0{,}4$
Forono	miąższ	$1{,}0^{e} \pm 0{,}5$	$1{,}0^{h} \pm 0{,}4$	$4{,}1^{c} \pm 0{,}3$	$1{,}2^{f} \pm 0{,}6$	$1{,}2^{d} \pm 0{,}4$	$4{,}7^{a} \pm 0{,}5$
	skóra	$4{,}8^{d} \pm 0{,}6$	$5{,}0^{d} \pm 0{,}4$	$3{,}5^{e} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{d} \pm 0{,}4$	$2{,}4^{e} \pm 0{,}4$	$3{,}5^{b} \pm 0{,}5$
Wodan	miąższ	$1{,}3^{d} \pm 0{,}3$	$0{,}8^{i} \pm 0{,}4$	$8{,}3^{a} \pm 0{,}4$	$2{,}0^{e} \pm 0{,}3$	$0{,}6^{f} \pm 0{,}4$	$4{,}1^{b} \pm 0{,}3$
	skóra	$2{,}1^{e} \pm 0{,}3$	$2{,}7^{e} \pm 0{,}5$	$8{,}1^{b} \pm 0{,}4$	$2{,}8^{e} \pm 0{,}4$	$0{,}4^{g} \pm 0{,}3$	$3{,}7^{b} \pm 0{,}3$
Opolski	miąższ	$1{,}0^{e} \pm 0{,}3$	$1{,}7^{f} \pm 0{,}4$	$8{,}2^{a} \pm 0{,}3$	$1{,}2^{f} \pm 0{,}4$	$1{,}2^{d} \pm 0{,}4$	$4{,}8^{a} \pm 0{,}4$
	skóra	$1{,}6^{f} \pm 0{,}4$	$2{,}1^{g} \pm 0{,}4$	$8{,}4^{a} \pm 0{,}3$	$1{,}4^{f} \pm 0{,}5$	$0{,}4^{g} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{b} \pm 0{,}5$
Rywal	miąższ	$0{,}8^{f} \pm 0{,}4$	$0{,}4^{j} \pm 0{,}6$	$6{,}8^{b} \pm 0{,}4$	$0{,}6^{g} \pm 0{,}4$	$0{,}8^{e} \pm 0{,}4$	$4{,}6^{a} \pm 0{,}3$
	skóra	$1{,}2^{g} \pm 0{,}5$	$0{,}7^{h} \pm 0{,}5$	$7{,}6^{c} \pm 0{,}4$	$1{,}4^{f} \pm 0{,}4$	$1{,}0^{f} \pm 0{,}5$	$4{,}2^{a} \pm 0{,}4$
Bonel	miąższ	$0{,}8^{f} \pm 0{,}2$	$1{,}6^{g} \pm 0{,}4$	$6{,}5^{b} \pm 0{,}4$	$2{,}6^{d} \pm 0{,}3$	$1{,}9^{b} \pm 0{,}6$	$4{,}0^{b} \pm 0{,}4$
	skóra	$1{,}5^{f} \pm 0{,}4$	$2{,}5^{f} \pm 0{,}5$	$4{,}7^{d} \pm 0{,}4$	$3{,}6^{d} \pm 0{,}3$	$3{,}8^{b} \pm 0{,}5$	$3{,}6^{b} \pm 0{,}4$

[a – j] Średnie noty sensoryczne poszczególnych wyróżników smakowych w obrębie miąższów lub skór różnią się istotnie statystycznie między odmianami ($p < 0{,}05$).

Źródło: Badania własne.

Odmiany korzeni buraka ćwikłowego Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus, Modana, Forono, Wodan, Opolski, Rywal i Bonel oraz ich poszczególne części wykazywały statystycznie istotne różnice (dwuczynnikowa analiza wariancji, $\alpha = 0{,}05$) w smaku gorzkim, który był wyczuwany z różnym natężeniem w zależności od odmiany i części korzenia (tabela 5). Najbardziej gorzką częścią badanych odmian korzeni buraka była skóra. Analizy sensoryczne miąższu i skóry korzeni buraków ćwikłowych pozwoliły wyselekcjonować grupę najbardziej gorzkich odmian, do których zaliczają się Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana.

Wyselekcjonowane odmiany charakteryzują się najsilniejszą intensywnością zarówno smaku, jak i posmaku gorzkiego. Badane odmiany korzeni buraka ćwikłowego można podzielić na wykazujące silne oraz minimalne natężenie smaku i posmaku gorzkiego. Przy ocenie odmian buraka ćwikłowego pod względem wyróżników



Rysunek 7. Profilogram jakości sensorycznej cech goryczkowych w świeżych burakach tartych otrzymanych z miąższu (A) i ze skór różnych odmian buraka ćwikłowego (B)

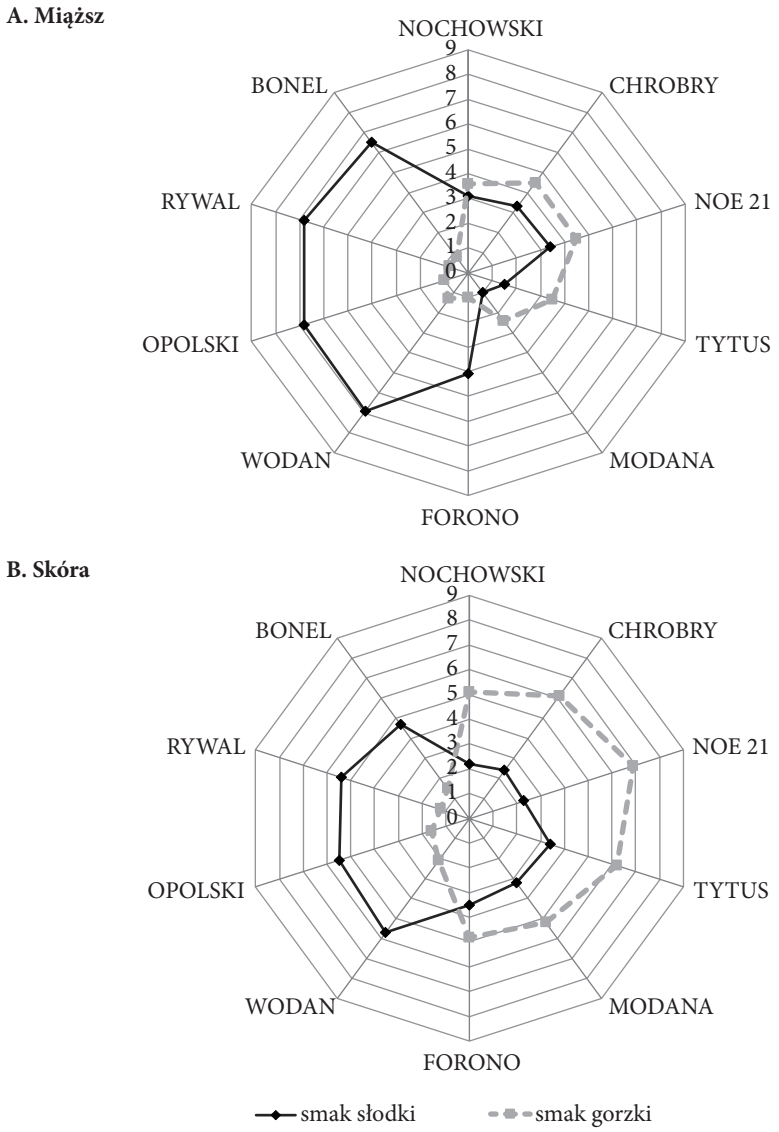
Źródło: Badania własne.

smaku należy brać pod uwagę część korzeni buraka ćwikłowego, ponieważ niektóre odmiany korzeni buraka wykazują silniejsze cechy goryczkowe w zewnętrznych częściach korzeni – w skórach, które są bardziej gorzkie aniżeli środek korzeni buraka (miąższ). Taką odmianą buraka jest Forono, której smak gorzki w ocenach sensorycznych był wyraźnie wyczuwalny jedynie w zewnętrznej części korzeni (w skórze) (rysunek 7B). Skóra tej odmiany zawiera ponad osiem razy więcej saponin (1432,2 μg/g s.m.) aniżeli środek (171,2 μg/g s.m.) (tabela 14, rozdział 4, pkt 4.2). Jednak z uwagi na to, że na ogół środek buraka ćwikłowego jest najbardziej przydatną cześcią korzenia dla przetwórstwa spożywczego, nie zakwalifikowano tej odmiany jako odmiany gorzkiej.

Charakterystyka sensoryczna badanej grupy buraka ćwikłowego wykazała, że najbardziej intensywną goryczką zarówno w miąższu, jak i skórce odznaczają się odmiany Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana. Z kolei takie odmiany, jak Forono, Wodan, Opolski, Rywal i Bonel znamionowały stosunkowo niską intensywność cech goryczkowych. Stwierdzono statystycznie istotne różnice między smakiem i posmakiem gorzkim w odmianach Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana w porównaniu do odmian Forono, Wodan, Opolski, Rywal i Bonel. Pierwsze pięć odmian buraka wykazywało silne natężenie smaku i posmaku gorzkiego, a pozostałe odmiany minimalne natężenie tych smaków, z wyjątkiem odmiany Forono, której tylko zewnętrzna część (skóra) jest bardzo gorzka. Odmiany gorzkich korzeni buraka ćwikłowego Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana charakteryzują się jednocześnie dużym odczuciem posmaku gorzkiego, przy czym w skórze odczuwano większe natężeniu posmaku gorzkiego niż w miąższu.

W odmianach o silnym natężeniu smaku gorzkiego stwierdzono równocześnie mniejsze natężenie smaku słodkiego. Nie można wykluczyć, że smak słodki może być maskowany odczuciem silnego natężenia smaku gorzkiego. W pozostałych odmianach wyczuwano silne natężenie smaku słodkiego, szczególnie w miąższu odmiany Wodan, Opolski, Rywal i Bonel. Wyniki ocen sensorycznych dla smaku słodkiego i gorzkiego przedstawiono na rysunku 8. W odmianie buraka Forono, jako jedynej spośród badanych odmian, stwierdzono dominujący smak słodki w miąższu, ale w skórze dominującym smakiem był smak gorzki.

Oprócz dwóch dominujących cech smakowych, tj. gorzkości i słodkości, obecnych w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego oceniano też inne wyróżniki smaku, takie jak smak ziemisty, cierpki i buraczany. Stwierdzono istotne różnice w intensywności odczuwania smaku ziemistego w zależności od odmiany i analizowanej części korzeni buraka ćwikłowego. Z wyjątkiem dwóch odmian Opolski i Wodan, w pozostałych odmianach świeżych buraków ćwikłowych smak ziemisty był intensywniejszy w skórach niż w miąższach. A w odmianach buraków Opolski i Wodan było odwrotnie, smak ziemisty był bardziej wyczuwalny w środkowych częściach korzeni. Podobną zależność stwierdzono w przypadku



Rysunek 8. Relacje między smakiem gorzkim i słodkim w świeżych burakach ćwikłowych otrzymanych z miąższu (A) i ze skór różnych odmian (B)

Źródło: Badania własne; (Mikołajczyk-Bator i Kikut-Ligaj, 2016).

smaku cierpkiego, który był bardziej wyczuwalny w skórach badanych odmian niż w miąższach. Ponadto wyższe noty dla tego smaku w ocenie sensorycznej przypisano odmianom gorzkim (Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana) niż pozostałym odmianom buraka, w których dominował smak słodki. Niemniej

jednak we wszystkich analizowanych odmianach buraka stwierdzono istotne różnice cierpkości w zależności od odmiany buraków i ich części.

W korzeniach buraków ćwikłowych poddanych ocenie sensorycznej smak buraczany był wyżej oceniany w miąższach korzeni niż w skórach. Różnice te były statystycznie istotne. Dodatkowo wykazano istotne różnice w intensywności smaku buraczanego pomiędzy odmianami. Na podstawie przeprowadzonej analizy sensorycznej stwierdzono, że środek korzeni (miąższ) wszystkich badanych odmian buraków ćwikłowych jest smaczniejszy niż zewnętrzne części korzeni, a biorąc pod uwagę różną zawartość saponin w różnych częściach korzeni buraka, można przyjąć, że ich większa zawartość w skórach przyczynia się do obniżenia jakości sensorycznej części zewnętrznych buraków. Ilościową zawartość saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego omówiono w rozdziale 4 pkt 4.2 i 4.3, natomiast korelacja między zawartością saponin w korzeniach buraka ćwikłowego z intensywnością cech goryczkowych została przedstawiona w rozdziale 5, pkt 5.2.

Spośród analizowanych odmian buraka ćwikłowego do dalszych wieloetapowych analiz dotyczących znaczenia saponin triterpenowych w kształtowaniu jakości sensorycznej i zdrowotnej przetworów z buraka ćwikłowego wybrano trzy odmiany korzeni buraka, w tym dwie wykazujące smak gorzki, tj. Chrobry i Nochowski, i jedną odmianę słodką Bonel.

3.3. Analiza sensoryczna badanych odmian buraka ćwikłowego

Na podstawie wyników uzyskanych metodą profilowania smakowitości do dalszych szczegółowych badań wytypowano trzy odmiany korzeni buraka ćwikłowego Bonel, Chrobry i Nochowski (opisanych w schemacie eksperymentu na rysunku 3, w rozdziale 3 pkt 3.1.1).

Badane odmiany korzeni buraka ćwikłowego podzielono na wykazujące silne (Chrobry i Nochowski) oraz minimalne (Bonel) natężenie smaku i posmaku gorzkiego. Smak gorzki określono jako dominującą cechę smakową w odmianach korzeni buraka Chrobry i Nochowski, przy czym dla wszystkich badanych odmian intensywność smaku i posmaku gorzkiego była silniejsza w skórach korzeni niż w ich miąższach. Gorzkość skór była oceniona na poziomie 1,5, 6,1, 5,1 pkt odpowiednio dla odmian Bonel, Chrobry i Nochowski, podczas gdy gorzkość miąższów badanych korzeni buraka oceniono znacznie niżej – na poziomie 0,8, 4,5, 3,6 pkt w skali 10-punktowej. Z kolei posmak gorzki, który jest wyczuwalny najczęściej po połknięciu przez oceniającego próbki, został również wyżej oceniony w skórach,

z notami 2,5, 7,2, 6,1 pkt odpowiednio dla odmian korzeni Bonel, Chrobry i Nochowski niż w miąższach tych odmian, gdzie noty wynosiły 1,6, 4,8 i 4,4 pkt. Można przyjąć, że części środkowe (miąższe) badanych korzeni buraków są w 55, 74 i 71% mniej gorzkie niż części zewnętrzne, czyli skóry korzeni buraków ćwikłowych odpowiednio odmian Bonel, Chrobry i Nochowski. Podobną zależność stwierdzono w przypadku posmaku gorzkiego (*aftertaste*), gdzie miąższe badanych korzeni wykazywały o 64, 67 i 72% mniejszą intensywność posmaku gorzkiego niż skóry.

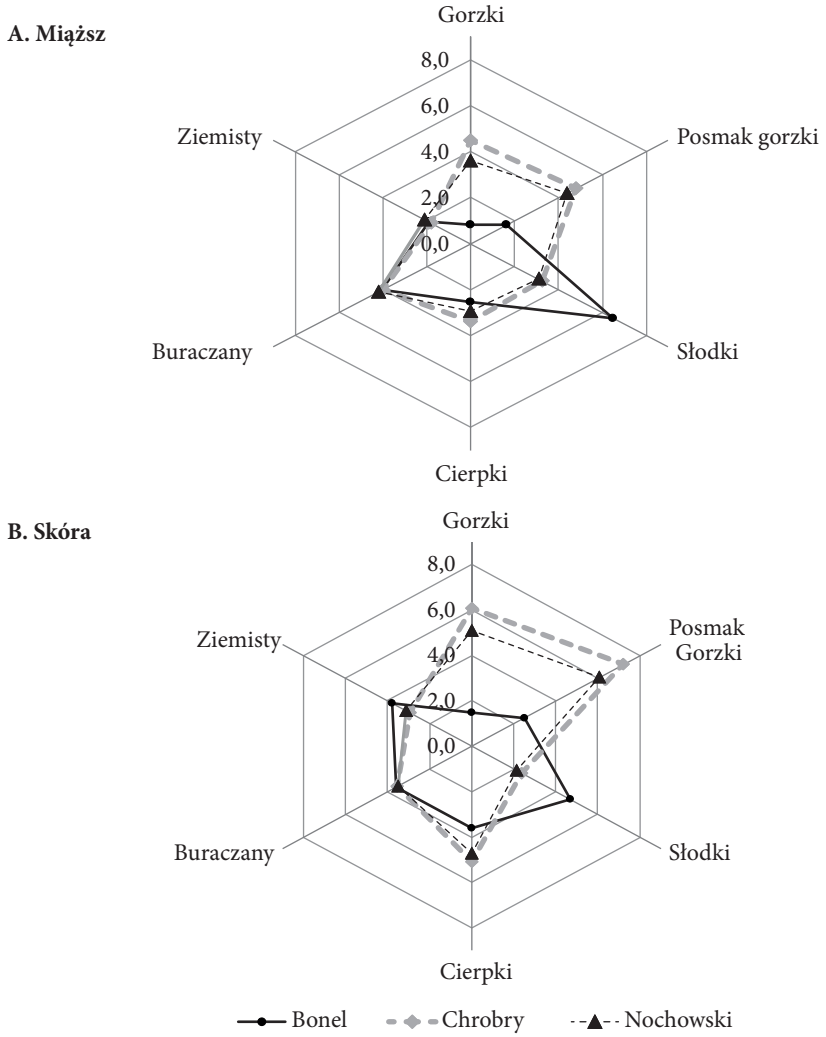
Z kolei korzenie buraka ćwikłowego odmiany Bonel posiadają silnie intensywny smak słodki i jednocześnie bardzo niskie wartości intensywności smaku gorzkiego (rysunek 9). Mniej odczuwalne cechy goryczkowe w tej odmianie są wynikiem niskiej zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka powodujących smak gorzki korzeni buraków ćwikłowych (rozdział 4 pkt 4,2 i 5 pkt 5,3). Smak słodki oceniono na poziomie 6,5 pkt w części środkowej korzeni, natomiast część zewnętrzna (skóra) tej odmiany wykazuje zdecydowanie mniejszą słodkość (4,7 pkt).

Na podstawie przeprowadzonej analizy sensorycznej stwierdzono, że smak słodki był bardziej wyczuwalny w miąższach badanych korzeni buraka niż w skórach. Miąższe korzeni buraka odmiany Chrobry i Nochowski w ocenie sensorycznej były wyżej notowane pod względem słodkości o 0,9 pkt niż skóry, ale ta cecha nie dominowała w smaku badanych korzeni, jak to miało miejsce w przypadku korzeni odmiany Bonel, gdzie wartość not dla smaku słodkiego znacznie przewyższała noty dla cech goryczkowych. Dodatkowo w miąższu buraka odmiany Bonel smak słodki był oceniony aż o 1,8 pkt wyżej niż w skórze tej odmiany.

Analizując noty sensoryczne świeżych korzeni buraków ćwikłowych pod względem smaku cierpkiego i ziemistego, stwierdzono, że smaki te były silniej wyczuwalne w skórach niż w miąższach analizowanych odmian korzeni buraka. Smak cierpki w skórach był wyżej oceniony o 1,0, 1,7 i 1,8 pkt niż w miąższach odpowiednio dla odmian Bonel, Chrobry i Nochowski, podobnie smak ziemisty uzyskał wyższe noty w skórach o 1,9, 1,1 i 1,0 pkt niż w miąższach. Ale w żadnym wypadku odczucie cierpkości czy ziemistości świeżych korzeni buraków nie przewyższało dominujących cech goryczkowych w korzeniach odmiany Chrobry i Nochowski czy dominującej cechy smaku słodkiego w odmianie korzeni buraka Bonel. Ostatnim ocenianym wyróżnikiem jakości był smak buraczany, który był w jednakowym stopniu wyczuwany przez zespół osób oceniających w poszczególnych odmianach świeżych korzeni buraka i uzyskał niemal jednakowo wysokie noty w miąższach badanych odmian (4–4,2 pkt w zależności od odmiany) i w skórach (3,5–3,6).

Na podstawie analizy statystycznej (analiza wariancji dwuczynnikowa ANOVA, $\alpha = 0{,}05$) stwierdzono, że poszczególne odmiany korzeni buraka różnią się istotnie natężeniem smaku i posmaku gorzkiego oraz istnieją wyczuwalne różnice gorzkości w zależności od części korzeni buraka. Wykazano, że skóra analizowanych korzeni jest istotnie bardziej gorzka niż miąższ korzeni buraka ćwikłowego, a intensywność smaku gorzkiego zależy od analizowanej odmiany buraka.

Analizowane odmiany buraka nie różnią się istotnie natężeniem smaku cierpkiego, ziemistego, słodkiego i buraczanego. Istotne różnice w natężeniu smaku cierpkiego, ziemistego, słodkiego i buraczanego stwierdzono w miąższach i skórach badanych odmian korzeni buraka ćwikłowego. Zarówno smak cierpki, jak i ziemisty był najbardziej wyczuwalny w skórze badanych odmian i mniej wyczuwalny w środkowej części surowca. Odwrotną zależność stwierdzono w przypadku smaku słodkiego i buraczanego, które uzyskały istotnie wyższe noty w miąższach niż w skórach.



Skala ocen sensorycznych od 0 do 9 (dziesięciopunktowa)

Rysunek 9. Wyniki analiz sensorycznych trzech odmian buraka ćwikłowego z zaznaczonymi deskryptorami smaku w miąższach (A) i w skórach świeżych korzeni (B)

Źródło: Badania własne.

Wyniki przedstawionych sensorycznych badań analitycznych potwierdzają i zarazem uzasadniają hipotezę, że smak gorzki jest powiązany z zawartością saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego, bowiem odmiany Chrobry i Nochowski zawierają (łącznie w miąższu i skórze) znacznie więcej saponin triterpenowych (odpowiednio 3488,6 i 2475,8 μg/g s.m.) niż odmiana Bonel (815,9 μg/g s.m.). Ponadto w częściach zewnętrznych korzeni buraków (w skórach) jest znacznie więcej saponin triterpenowych (684,5 μg/g s.m. Bonel, 1963,7 μg/g s.m. Chrobry i 1359 μg/g s.m. Nochowski) niż w miąższach (131,4 μg/g s.m. Bonel, 1524,9 μg/g s.m. Chrobry i 1116,8 μg/g s.m. Nochowski), co wyjaśnia przyczynę intensywniejszego smaku gorzkiego w skórach w porównaniu do miąższów (ilościowe zawartości saponin w różnych odmianach buraka i ich częściach omówiono w rozdziale 4 pkt 4,2, a zależność między smakiem gorzkim a zawartością saponin w burakach w rozdziale 5 pkt 5.2).

3.4. Wpływ ogrzewania i przechowywania na ocenę sensoryczną soków z buraka ćwikłowego

Wpływ ogrzewania i przechowywania na zmiany jakości sensorycznej soków z buraka ćwikłowego przeprowadzono dla soków świeżo tłoczonych otrzymanych z trzech odmian: Bonel, Chrobry i Nochowski, w skali laboratoryjnej, które następnie były pasteryzowane w 90°C przez 30 minut, a część z tych soków po pasteryzacji przechowywano przez sześć miesięcy w temp. 4°C, bez dostępu światła. Soki otrzymano z całych korzeni buraka ćwikłowego. Korzenie buraka pochodziły ze Spójni Hodowla i Nasiennictwo Ogrodnicze Sp. z o.o. z Nochowa i charakteryzowały się jednakowymi warunkami uprawy i tym samym terminem zbioru. We wszystkich przeprowadzonych analizach sensorycznych brał udział 14-osobowy zespół osób oceniających, odpowiednio wyselekcjonowany i przeszkolony, o sprawdzonej wrażliwości sensorycznej (rozdział 3 pkt 3.1.5).

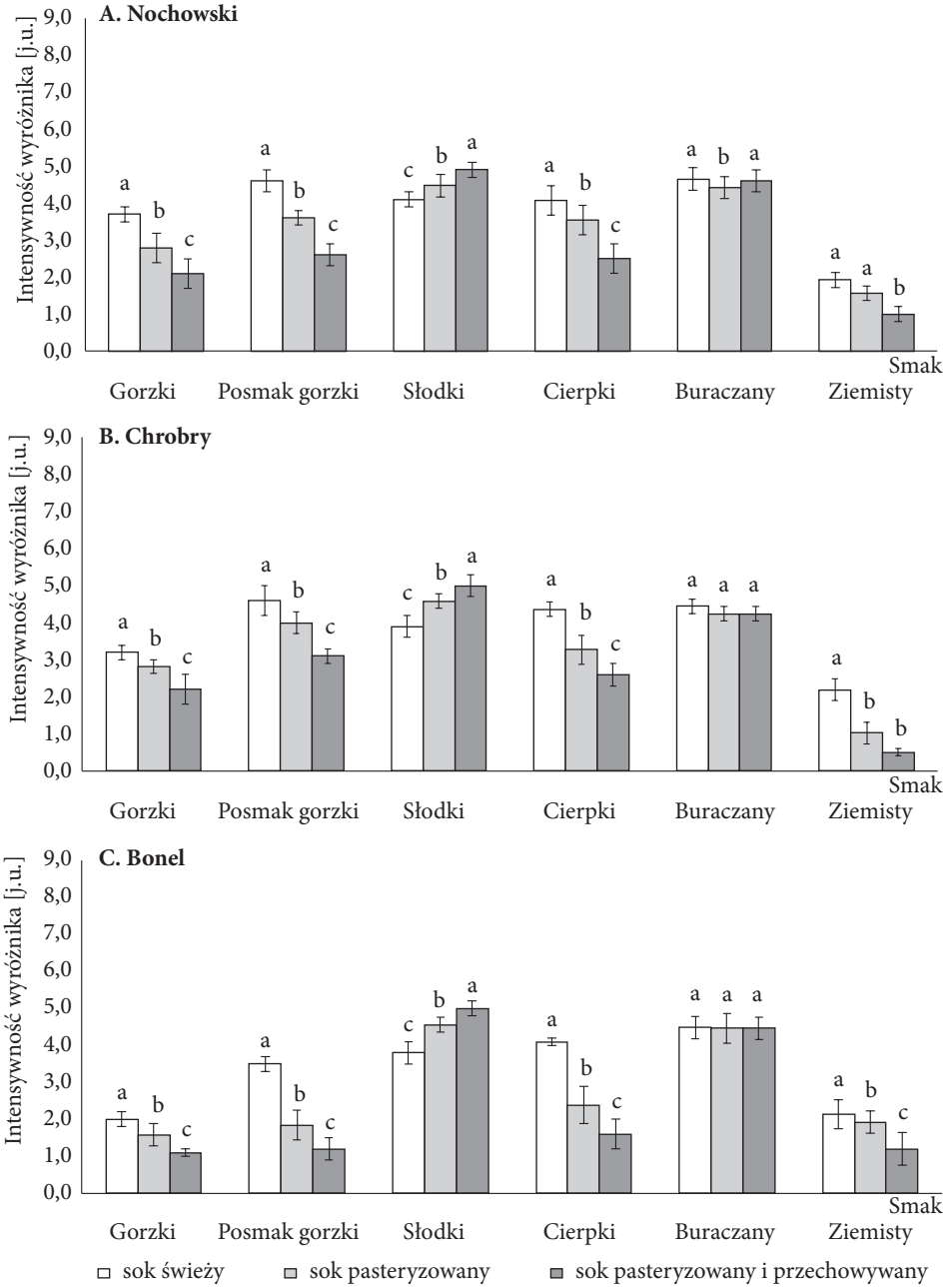
Na podstawie przeprowadzonych analiz sensorycznych stwierdzono istotne różnice (jednoczynnikowa analiza wariancji, ANOVA, $\alpha = 0{,}05$) w smaku świeżych soków otrzymanych z trzech odmian buraków. Wykazano, że świeże soki buraka z odmian Nochowski i Chrobry charakteryzowały się dużą intensywnością odczuwania smaku i posmaku gorzkiego, a w sokach z odmiany Bonel dominował smak słodki.

Soki świeże, pasteryzowane i przechowywane otrzymane z odmian Chrobry i Nochowski wykazywały najwyższe intensywności odczuwania smaku gorzkiego. Intensywność odczuwania smaku gorzkiego soków świeżych oceniono na poziomie 3,2 (Chrobry) i 3,7 pkt (Nochowski) w 10-stopniowej skali ocen

(rysunek 10), natomiast sok otrzymany z odmiany Bonel cechował się znacznie mniejszym odczuciem smaku gorzkiego (2,0 pkt). Z kolei posmak gorzki (ang. *aftertaste*), który zwykle jest odczuwany najintensywniej po połknięciu badanej próbki, stanowił cechę dominującą w sokach z tych odmian. Skala odczuwania intensywności posmaku gorzkiego wynosiła 4,6 pkt zarówno dla świeżego soku z odmiany Chrobry, jak i Nochowski, a sok otrzymany z odmiany Bonel wykazywał znacznie mniejsze odczucie posmaku gorzkiego na poziomie (3,5 pkt). Proces pasteryzacji miał istotny wpływ (dwuczynnikowa analiza wariancji, ANOVA, $\alpha = 0{,}05$) na zmniejszenie odczucia smaku i posmaku gorzkiego oraz smaku cierpkiego w sokach. Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej wykazano istotne różnice w intensywności odczuwania cech goryczkowych (smaku i posmaku gorzkiego) między sokami trzech analizowanych odmian oraz stwierdzono istotne różnice w odczuwaniu cech goryczkowych między sokami świeżymi, pasteryzowanymi i przechowywanymi. Natomiast w przypadku smaku cierpkiego nie stwierdzono istotnych różnic w jego odczuwaniu między odmianami, a więc wszystkie badane świeże soki były tak samo cierpkie. Stwierdzono jednak istotne różnice w intensywności odczuwania smaku cierpkiego w sokach świeżych, ogrzewanych i przechowywanych. Soki świeże były zatem znacznie bardziej cierpkie niż soki pasteryzowane, a półroczne przechowywanie soków pasteryzowanych dodatkowo wpłynęło na obniżenie cierpkości (rysunek 10) (Mikołajczyk-Bator, 2016).

Intensywność odczucia smaku gorzkiego soków pasteryzowanych oceniono na poziomie 2,8 pkt dla soków z odmian Chrobry i Nochowski oraz 1,6 pkt dla soku pasteryzowanego z odmiany Bonel. Podobnie było w przypadku posmaku gorzkiego, proces pasteryzacji miał istotny wpływ na zmniejszenie intensywności odczuwania tego smaku w sokach z odmian Chrobry (obniżenie not z 4,6 do 4,0 pkt), Nochowski (z 4,6 do 3,6 pkt) i Bonel (z 3,5 do 1,8 pkt) w porównaniu do posmaku gorzkiego w sokach świeżych. Półroczne przechowywanie w temp. 4°C pasteryzowanych soków przyczyniło się do dalszego obniżenia intensywności odczuwania cech goryczkowych we wszystkich badanych sokach (rysunek 10). Na postawie przeprowadzonych analiz sensorycznych stwierdzono, że intensywność odczuwania smaku gorzkiego w sokach odpowiednio Chrobry, Nochowski i Bonel po półrocznym przechowywaniu spadła odpowiednio z 3,2, 3,7 i 2,0 pkt do 2,2, 2,1 i 1,1 pkt, w porównaniu do soków świeżych. Podobnie było w przypadku posmaku gorzkiego, gdzie po półrocznym przechowywaniu intensywność tego smaku obniżyła się z 4,6, 4,6, 3,5 pkt do 3,1, 2,6 i 1,2 pkt odpowiednio dla odmian Chrobry, Nochowski i Bonel w porównaniu do soków świeżych.

Odwrotną zależność w porównaniu do cech goryczkowych badanych soków stwierdzono w przypadku smaku słodkiego, soki pasteryzowane były słodsze niż soki świeże średnio o 0,6 pkt. Intensywność odczucia smaku słodkiego w sokach świeżych wahała się od 3,8 do 4,1 pkt, w zależności od odmiany, a po pasteryzacji na



[a, b, c] Wartości średnie, w obrębie danego wyróżnika smaku, różnią się istotnie w zależności od rodzaju soku (świeży, pasteryzowany i pasteryzowany przechowywany) (test Tukeya, $p < 0,05$)
Skala ocen sensorycznych od 0 do 9 (dziesięciopunktowa)

Rysunek 10. Relacje między badanymi wyróżnikami smaku soków świeżych, pasteryzowanych i przechowywanych otrzymanych z odmian Nochowski (A), Chrobry (B), Bonel (C)

Źródło: Badania własne; (Mikołajczyk-Bator, 2016).

poziomie od 4,5 do 4,6 pkt, natomiast po przechowywaniu intensywność odczucia słodkości w badanych sokach była jeszcze wyżej oceniona – na poziomie od 4,9 do 5,0 pkt w zależności od badanej odmiany (Mikołajczyk-Bator, 2016).

Na podstawie analizy statystycznej (dwuczynnikowa analiza wariancji, ANOVA, $\alpha = 0{,}05$) można stwierdzić, że badane soki świeże nie różnią się natężeniem smaku słodkiego, a więc słodycz w analizowanych sokach była odczuwana na tym samym poziomie w zakresie od 3,8 do 4,1 pkt, stwierdzono jednak istotne różnice w intensywności odczuwania smaku słodkiego w sokach świeżych, ogrzewanych i przechowywanych z buraka ćwikłowego.

Analizie sensorycznej poddano również smak buraczany, który jest typowym wyróżnikiem ocenianego surowca i jego produktów. We wszystkich badanych sokach natężenie smaku buraczanego oceniono na wysokim poziomie od 4,4 do 4,7 pkt. Z analizy statystycznej wynika, że intensywność smaku buraczanego różni się istotnie w zależności od ocenianego soku świeżego. Najwyższe noty dla smaku buraczanego otrzymał sok z odmiany Nochowski (4,7 pkt), a najniższe sok z odmiany Chrobry (4,4 pkt). Proces pasteryzacji nie wpływał istotnie na zmianę smaku buraczanego w analizowanych sokach, tak samo jak półroczne przechowywanie nie wpłynęło istotnie na zmiany odczuwania smaku buraczanego we wszystkich analizowanych sokach. Ostatnią badaną cechą był smak ziemisty, który występuje tylko w sokach określonych odmian korzeni buraka. Smak ziemisty, podobnie jak smak buraczany, jest charakterystyczną cechą tego surowca. Wyczuwalność tego smaku została przypisana w jednakowym stopniu w obrębie danego rodzaju soku, czyli żaden z soków (np. świeżych) nie różnił się istotnie pod względem poziomu intensywności tego wyróżnika smakowego, niemniej jednak wykazano istotny spadek wyczuwania tej cechy w sokach po pasteryzacji i jeszcze większe obniżenie wyczuwalności tego smaku po półrocznym przechowywaniu.

Podsumowując, wszystkie pasteryzowane w 90°C przez 30 minut soki charakteryzowały się większą intensywnością odczuwania smaku słodkiego niż soki świeże. Proces pasteryzacji istotnie wpływał na zmniejszenie odczucia cech goryczkowych oraz smaku cierpkiego w sokach, a półroczne przechowywanie dodatkowo wpłynęło na obniżenie gorzkości i cierpkości soku z buraków badanych odmian. Z kolei odczucie smaku słodkiego było silniejsze w sokach pasteryzowanych niż w sokach świeżych, a przechowywanie soków pasteryzowanych miało istotny wpływ na zwiększenie odczucia smaku słodkiego.

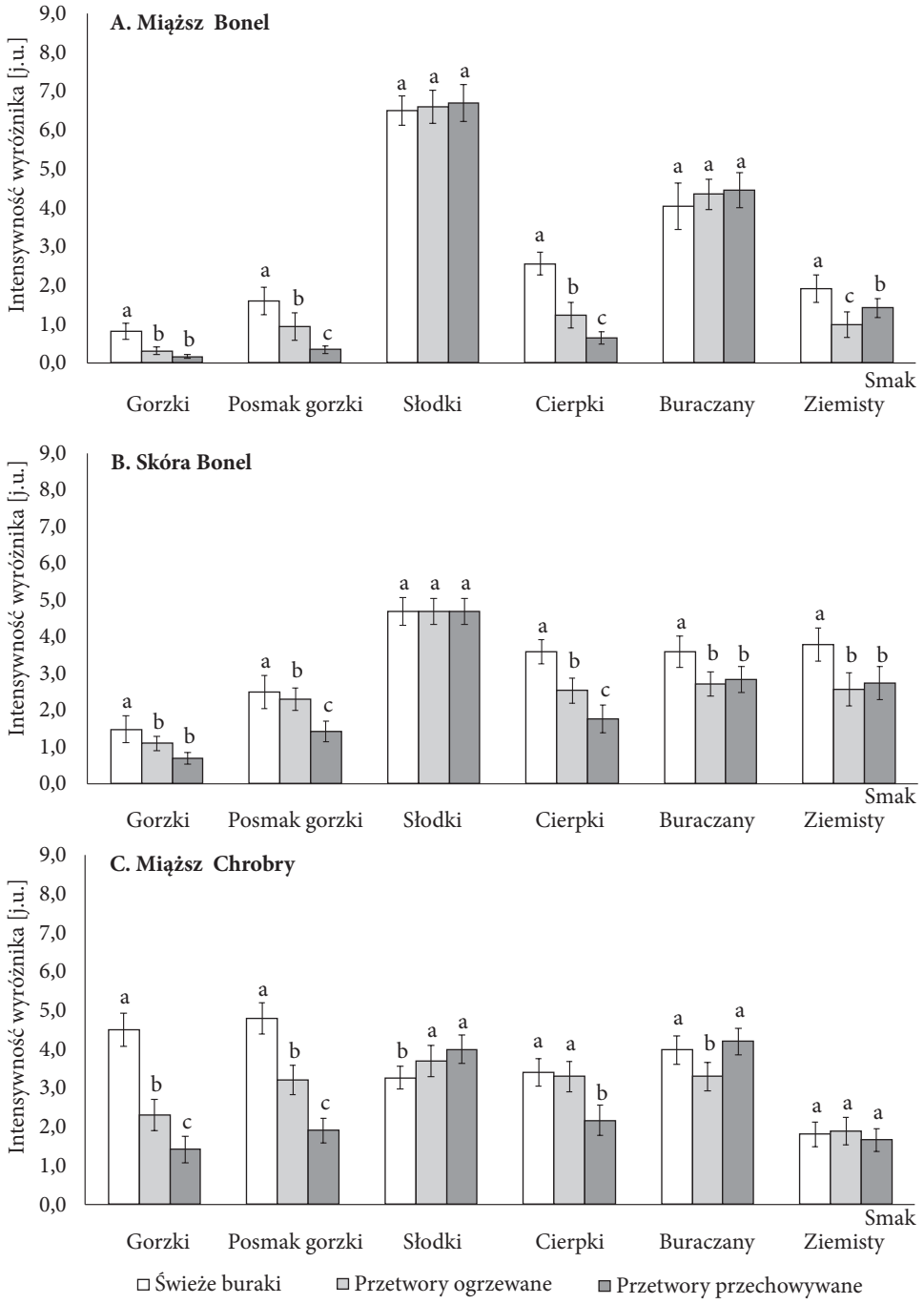
Z doświadczenia wynika, że proces pasteryzacji i półroczne przechowywanie soków pasteryzowanych przyczyniły się do poprawy cech sensorycznych soków buraczanych, wpływając na zwiększenie odczucia smaku słodkiego i jednocześnie zmniejszając intensywność odczucia niekorzystnych dla konsumentów cech goryczkowych oraz smaku cierpkiego.

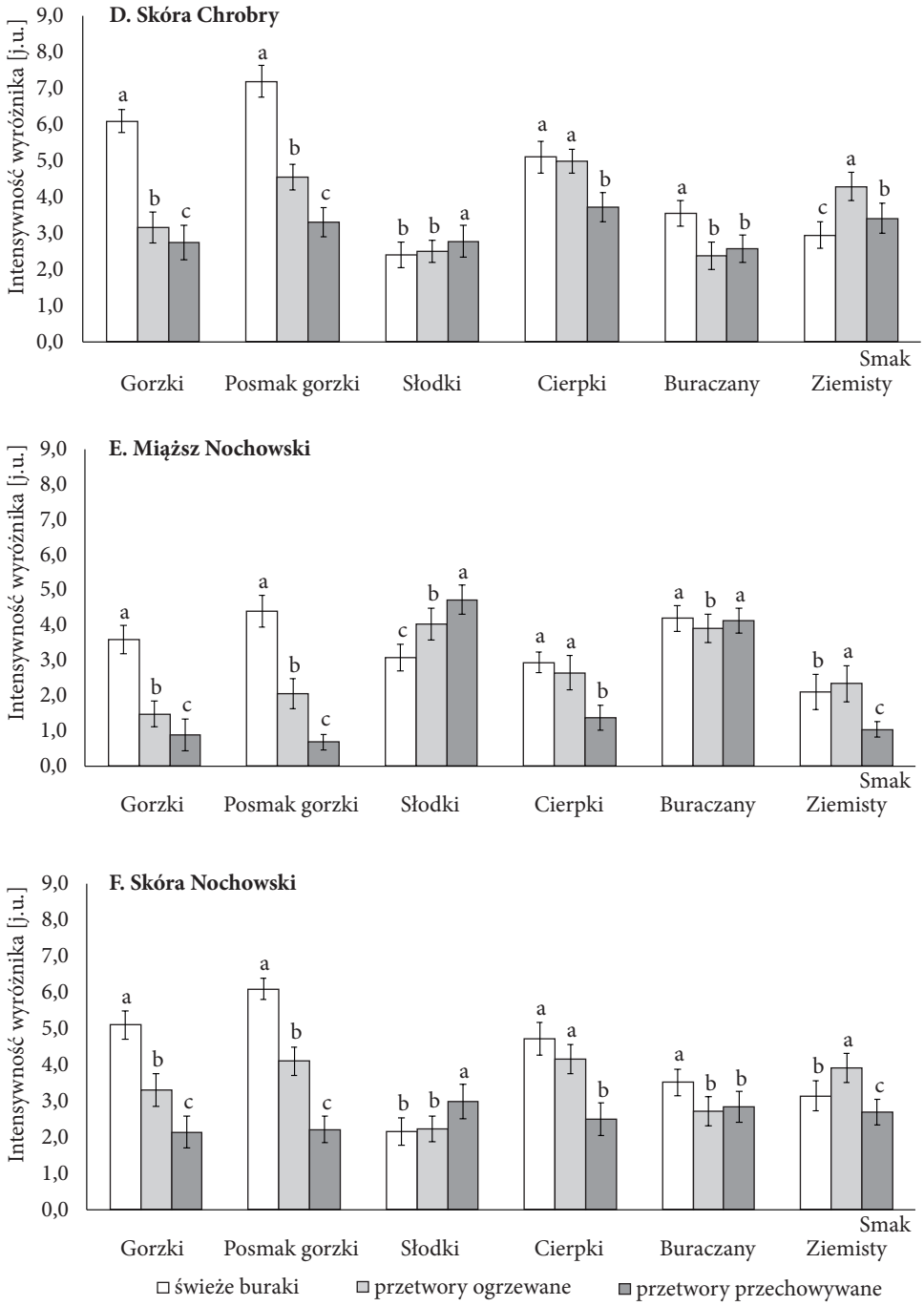
3.5. Wpływ ogrzewania i przechowywania na ocenę sensoryczną przetworów z buraka ćwikłowego

Zarówno obróbka termiczna, jak i długotrwałe przechowywanie finalnego produktu przed spożyciem niesie za sobą zmiany zawartości związków bioaktywnych decydujących o jakości sensorycznej produktów spożywczych. W rozdziale tym omówiono zmiany smaku buraka ćwikłowego w czasie obróbki termicznej i po przechowywaniu gotowych przetworów.

Przetworami były tarte buraki ćwikłowe ogrzewane w temperaturze 100°C przez 30 minut oraz przechowywane przez pół roku w temperaturze 4°C. Wszystkie analizy zostały przeprowadzone na trzech odmianach buraka ćwikłowego Bonel, Chrobry i Nochowski. Wyniki analiz sensorycznych smaku przetworów porównano z wynikami analiz sensorycznych uzyskanymi dla świeżych korzeni buraka, z których otrzymano badane przetwory. Ocenianymi deskryptorami były smak i posmak gorzki, słodki, cierpki, ziemisty i buraczany. Przetwory z buraka ćwikłowego otrzymano w skali laboratoryjnej, osobno ze skór i miąższów.

Analizując wyniki przeprowadzonych ocen sensorycznych przez zespół wykwalifikowanych osób oceniających (wybrani oceniający), stwierdzono, że badane cechy goryczkowe określane deskryptorami smaku gorzkiego i posmaku gorzkiego wykazują mniejsze natężenie smaku w ogrzewanych burakach tartych wszystkich badanych odmian niż w świeżym surowcu, a półroczne przechowywanie uprzednio ogrzewanych buraków tartych wpłynęło dodatkowo na obniżenie smaku gorzkiego analizowanych produktów. Smak gorzki był zdecydowanie bardziej wyczuwalny w burakach tartych otrzymanych ze skór odmian Chrobry i Nochowski niż w miąższach. Taką samą zależność stwierdzono w przypadku ocenianych przetworów z odmiany buraka Bonel, ale gorzkość nie była cechą dominującą w tych produktach, dlatego noty dla smaku gorzkiego w tartych burakach z odmiany Bonel były na bardzo niskim poziomie zarówno w przypadku świeżych buraków (0,8 pkt miąższ, 1,5 pkt skóra), jak i przetworów ogrzewanych (0,3 pkt miąższ, 1,1 pkt skóra) oraz przechowywanych (0,2 pkt miąższ, 0,7 pkt skóra) (rysunek 11). W przeciwieństwie do cech goryczkowych smak słodki był dominującym deskryptorem w przetworach buraczanych otrzymanych z odmiany Bonel. W przypadku świeżych buraków tartych otrzymanych z dwóch gorzkich odmian buraka (Chrobry i Nochowski) smak gorzki oceniono na poziomie 4,5 i 6,1 pkt (miąższ i skóra) odpowiednio dla buraków otrzymanych z odmiany Chrobry i nieco niżej dla buraków z odmiany Nochowski – 3,6 i 5,1 pkt – miąższ i skóra). Po ogrzewaniu gorzkość w przetworach buraczanych była mniej wyczuwalna, a uzyskane noty były na poziomie 2,3 i 3,2 pkt (przetwory z miąższu i skór, Chrobry) oraz 1,5 i 3,3 pkt (przetwory z miąższu i skór, Nochowski). Proces ogrzewania tartych buraków


A. Miąższ Bonel
B. Skóra Bonel
C. Miąższ Chrobry
Intensywność wyróżnika [j.u.]
9,0
8,0
7,0
6,0
5,0
4,0
3,0
2,0
1,0
0,0
Smak
Gorzki
Posmak gorzki
Słodki
Cierpki
Buraczany
Ziemisty
Świeże buraki
Przetwory ogrzewane
Przetwory przechowywane



[a, b, c] Wartości średnie, w obrębie danego wyróżnika smaku, różnią się istotnie w zależności od rodzaju ocenianego produktu (świeże buraki, przetwory ogrzewane i przechowywane) (test Tukeya, $p < 0,05$)

Rysunek 11. Profilogram jakości sensorycznej świeżych, ogrzewanych i przechowywanych tartych buraków ćwikłowych otrzymanych z różnych części korzeni i odmian: miąższ Bonel (A), skóra Bonel (B), miąższ Chrobry (C), skóra Chrobry (D), miąższ Nochowski (E), skóra Nochowski (F)

Źródło: Badania wasne.

(przetworów ogrzewanych) otrzymanych w kolejności z miąższu i skór odmiany Chrobry wpłynął na obniżenie smaku gorzkiego aż o 2,2 pkt i 2,9 pkt w porównaniu ze świeżym surowcem. Podobnie było w przypadku przetworów otrzymanych z miąższu i skór odmiany Nochowski, proces ogrzewania spowodował spadek intensywności odczuwania gorzkości tych przetworów o 2,1 i 1,8 pkt w porównaniu ze świeżym surowcem. Z kolei smak gorzki w przetworach przechowywanych oceniono jeszcze niżej niż smak gorzki w przetworach ogrzewanych. Gorzkość przetworów przechowywanych z odmiany Chrobry oceniono na poziomie 1,4 pkt (przetwory otrzymane z miąższu) i 2,8 pkt (przetwory otrzymane ze skór) czyli aż o 3,1 pkt mniej i o 3,3 pkt mniej, w porównaniu do not uzyskanych dla świeżych buraków. Taką samą zależność stwierdzono w przypadku przetworów przechowywanych otrzymanych z odmiany Nochowski, noty uzyskane dla smaku gorzkiego obniżyły się o 2,7 i 3,0 pkt odpowiednio dla przetworów buraczanych otrzymanych z miąższu i skór tej odmiany, w porównaniu z surowcem świeżym. Zaobserwowano tendencję spadkową w odczuwaniu intensywności smaku gorzkiego po ogrzewaniu, a także po półrocznym przechowywaniu uprzednio ogrzewanych przetworów buraczanych otrzymanych z odmian Chrobry i Nochowski (rysunek 11).

W świeżych burakach tartych otrzymanych ze skór odmiany korzeni Chrobry, które były poddane analizie sensorycznej, stwierdzono jednocześnie najwyższą zawartość saponin (1963,7 ± 358,1 μg/g s.m.), a w burakach otrzymanych z miąższu tej odmiany zawartość saponin była również wysoka (1524,9 ± 86,4 μg/g s.m.), co przekładało się na dużą intensywność odczuwania smaku gorzkiego w tym surowcu i jego częściach korzenia. Z kolei miąższ buraków ćwikłowych odmiany Bonel, w których cechą dominującą był smak słodki, charakteryzował się najniższą zawartością saponin (131,4 ± 24,0 μg/g s.m.), podobnie jak skóry tej odmiany, gdzie całkowita zawartość saponin triterpenowych była na najniższym poziomie (684,5 ± 70,6 μg/g s.m.) spośród analizowanych świeżych odmian buraka ćwikłowego.

Oprócz smaku gorzkiego w analizowanych przetworach oceniano posmak gorzki (ang. *aftertaste*), wrażenie smakowe w jamie ustnej, jakie pozostaje po połknięciu badanej próbki żywności. Na podstawie przeprowadzonych analiz sensorycznych stwierdzono, że intensywność posmaku gorzkiego malała po ogrzewaniu tartych buraków otrzymanych zarówno ze skór, jak i z miąższu obu gorzkich odmian Chrobry i Nochowski (czyli w przetworach ogrzewanych), a odczucie posmaku gorzkiego w tych przetworach zmniejszyło się o 1,6 pkt i 2,3 pkt (w przetworach otrzymanych z miąższów odmian Chrobry i Nochowski) oraz o 2,6 pkt i 2,0 pkt (w przetworach otrzymanych ze skór tych odmian) w porównaniu do not uzyskanych dla świeżych, nieogrzewanych buraków. Proces półrocznego przechowywania uprzednio ogrzewanych przetworów z buraka ćwikłowego dodatkowo przyczynił się do dalszego obniżenia odczuwania posmaku gorzkiego. W przetworach buraczanych otrzymanych z miąższu odmian Chrobry i Nochowski intensywność odczucia smaku gorzkiego zmniejszyła się o 2,9 pkt i 3,7 pkt, a w przetworach otrzymanych

ze skór tych odmian gorzkość zmalała o 3,9 pkt w porównaniu do not uzyskanych w ocenach surowców świeżych, nieprzechowywanych.

Proces ogrzewania miał istotny wpływ na zmniejszenie odczuwania smaku i posmaku gorzkiego we wszystkich analizowanych odmianach korzeni buraka i ich częściach, zaś półroczne przechowywanie uprzednio ogrzewanych korzeni buraków ćwikłowych powodowało dodatkowe istotne statystycznie obniżenie odczuwania smaku i posmaku gorzkiego zarówno w miąższach, jak i skórach analizowanych przetworów.

Smak słodki

Smak słodki był dominującą cechą odmiany buraka ćwikłowego Bonel w przetworach po ogrzewaniu i po półrocznym przechowywaniu. Buraki ćwikłowe tej odmiany zawierają najmniej saponin triterpenowych spośród analizowanych odmian buraka, zarówno w miąższu, jak i w skórze korzeni, co tłumaczy niski poziom odczuwania gorzkości korzeni tej odmiany i znaczny poziom odczuwania słodkości. W porównaniu do najbardziej gorzkiej badanej odmiany, jaką jest Chrobry, odmiana Bonel zawiera ponad cztery razy mniej saponin triterpenowych w korzeniach (łącznie w skórze i miąższu). Zawartość saponin triterpenowych w korzeniach odmiany Bonel wynosi 815,9 μg/g s.m., a w odmianie Chrobry 3488,6 μg/g s.m. Doświadczenie dowodzi, że intensywność smaku słodkiego jest dominująca w odmianie, w której jest niski poziom związków gorzkich, jak to ma miejsce w przypadku odmiany buraka Bonel. Za tą przesłanką przemawia również fakt, że gorzkie odmiany buraka ćwikłowego Chrobry i Nochowski również otrzymały podobne noty dotyczące poziomu smaku słodkiego przez zespół osób oceniających, ale słodkość tych odmian nie była cechą dominującą. Dlatego największy wpływ na ogólną pożądaną przez konsumentów jakość sensoryczną badanych odmian buraka ma smak słodki. W czasie ogrzewania część saponin triterpenowych ulega degradacji (rozdział 4 pkt 4.3), przez co zmienia się smak korzeni buraka ćwikłowego, dlatego po ogrzewaniu tartych buraków dwóch gorzkich odmian Chrobry i Nochowski ich słodkość uzyskała w ocenach sensorycznych wyższe noty niż przed ogrzewaniem. Straty zawartości saponin triterpenowych w tartych burakach otrzymanych z miąższu i skór korzeni odmiany Chrobry po ogrzewaniu wynosiły 28% i 27%, a odmiany Nochowski 29 % i 68% (przetwory otrzymane z miąższu i skór) (rozdział 4 pkt 4.3, tabela 15). Takiej zależności (zwiększonej intensywności odczucia słodkości po ogrzewaniu) nie obserwowano w burakach tartych otrzymanych ze skór odmiany Bonel. Słodkość przetworów buraczanych otrzymanych ze skór tej odmiany pozostawała na tym samy poziomie co przed ogrzewaniem. W odmianie Bonel smak gorzki w świeżych burakach z miąższu był oceniony na poziomie 0,8 pkt, a po ogrzewaniu 0,3 pkt, a więc był w zasadzie bardzo słabo wyczuwalny, podobnie jak w surowcu przed ogrzewaniem. W praktyce odczucie słodkości buraków

ogrzewanych otrzymanych z miąższu odmiany Bonel pozostawało na takim samym poziomie jak buraków świeżych.

Na percepcję smaku słodkiego mogą mieć wpływ inne kwaśne lub gorzkie związki występujące w owocach i warzywach (Keast i Breslin, 2002).

Proces ogrzewania buraków tartych powodował istotne obniżenie cech goryczkowych we wszystkich analizowanych przetworach otrzymanych z trzech odmian korzeni buraka. Ponadto półroczne przechowywanie wpłynęło istotnie na polepszenie jakości sensorycznej przetworów ze wszystkich analizowanych odmian buraka ćwikłowego poprzez zmniejszenie odczucia gorzkości.

Proces przechowywania korzystnie wpływał na zmiany jakości sensorycznej badanych przetworów z buraka ćwikłowego, powodując istotnie większe odczucie smaku słodkiego w przetworach otrzymanych z miąższu wszystkich analizowanych odmian, jak również większe odczucie słodkości w przetworach otrzymanych ze skór odmian gorzkich, tj. Chrobry i Nochowski.

Smak cierpki

Smak cierpki we wszystkich analizowanych przetworach z buraka ćwikłowego nie zmienił się istotnie po ogrzewaniu, ale intensywność smaku cierpkiego różniła się istotnie w przetworach w zależności od części korzenia. Największą intensywność smaku cierpkiego stwierdzono w ocenianych świeżych tartych burakach otrzymanych ze skór (czyli w świeżym surowcu), zwłaszcza w odmianach Chrobry i Nochowski. W tych dwóch odmianach cierpkość świeżych buraków tartych otrzymanych ze skór oceniono na poziomie 5,1 pkt (Chrobry) i 4,7 pkt (Nochowski), a po ogrzewaniu na poziomie 5,0 pkt (Chrobry) i 4,2 pkt (Nochowski). Natomiast cierpkość świeżych skór odmiany Bonel została oceniona na poziomie 3,6 pkt, a po ogrzewaniu na 2,5 pkt. Dla porównania świeże buraki tarte otrzymane z miąższów tych odmian wykazywały istotnie mniejszą cierpkość o 1,7 i 1,8 pkt (buraki tarte z odmian Chrobry i Nochowski) oraz o 1,0 pkt (buraki tarte z odmiany Bonel). W badanych burakach intensywność smaku cierpkiego różniła się istotnie w zależności od odmiany i części korzeni. Półroczne przechowywanie przetworów otrzymanych z miąższów i skór analizowanych odmian spowodowało istotny spadek intensywności odczuwania smaku cierpkiego, średnio o około 1,7 pkt w porównaniu do świeżych buraków.

Smak buraczany

Smak buraczany jako typowy wyróżnik smaku buraka ćwikłowego i jego przetworów był dość wysoko oceniany na poziomie od 3,5 do 4,2 pkt w świeżym surowcu. Po ogrzewaniu smak buraczany istotnie uległ obniżeniu w przetworach z odmian Chrobry i Nochowski o 0,3 – 1,2 pkt w zależności od odmiany, z wyjątkiem prze-

tworów otrzymanych z miąższu odmiany Bonel. W ogrzewanym miąższu tej odmiany smak buraczany był wyżej punktowany w ocenach sensorycznych średnio o 0,3 pkt niż w świeżym surowcu. Po półrocznym przechowywaniu przetworów ogrzewanych otrzymanych ze skór smak buraczany uległ istotnemu obniżeniu średnio o 0,8 pkt w porównaniu z surowcem. W przetworach przechowywanych otrzymanych z miąższu dwóch odmian Bonel i Chrobry smak buraczany uzyskał wyższe noty niż surowiec (rysunek 11).

Smak ziemisty

We wszystkich analizowanych przetworach otrzymanych ze skór buraków smak ziemisty był intensywniej odczuwany przez zespół osób oceniających niż w przetworach z buraka otrzymanych z miąższu korzeni. W przetworach buraka otrzymanych z odmian gorzkich Chrobry i Nochowski smak ziemisty był bardziej wyczuwalny po ogrzewaniu w porównaniu do świeżych buraków, natomiast w przetworach ogrzewanych z odmiany buraka korzeni Bonel, przyjętych na podstawie ocen sensorycznych jako odmiana słodka, smak ziemisty był mniej wyczuwalny. Proces ogrzewania przetworów buraka ćwikłowego odmiany Bonel powodował istotne obniżenie odczuwania smaku ziemistego.

Badania przeprowadzone przez zespół naukowców: Pihlsgarda, Larssona, Leufvéna i Lingnerta (2000) na próbkach pobranych z różnych części buraka cukrowego, w czasie procesu wytwarzania cukru, wykazały, że geosmina jako związek aromatyczny mogący powodować smak i zapach ziemisty buraków cukrowych była obecna na początku procesu, ale w czasie dalszego przetwarzania buraka uległa degradacji (Pihlsgard i in. 2000). Podobny wniosek wysunęła Richardson (2013), stwierdzając, że geosmina jest obecna głównie w surowych burakach ćwikłowych, a proces przetwarzania buraków (ogrzewanie, pieczenie) powoduje degradację geosminy (Richardson, 2013).

W dostępnej literaturze problem zapachu ziemistego buraków ćwikłowych został badany przez Richardson (2013), która wykazała, że w burakach ćwikłowych obecnych jest 21 związków aromatycznych, a spośród nich tyko dwa związki (geosmina i 2-sec-butyl-3-metoksypyrazyna) powodują zapach ziemisty tego surowca. Ponadto geosmina i 2-sec-butyl-3-metoksypyrazyna zostały zidentyfikowane w bardzo małych stężeniach w burakach ćwikłowych, powodując aromat ziemisty tego warzywa (Richardson, 2013).

Geosmina, jako substancja chemiczna powodująca charakterystyczny ziemisty aromat buraków, została odkryta przez zespół Acree, Lee, Butts i Barnard (1975). Według badań Lu, Fellman, Edwards, Mattinson i Navazio (2003b) geosmina (trans-1,10-dimetylo-trans-9-dekaol) jest jednym z komponentów charakterystycznego aromatu buraka, który może być przyczyną, jak twierdzą autorzy, gorzkiego smaku buraków (Lu, Edwards, Fellman, Mattinson i Navazio, 2003a; Lu i in., 2003b).

Wiadomo jednak, że geosmina powoduje obniżenie jakości sensorycznej owoców i warzyw takich jak winogrona, marchew i buraki oraz grzyby, a niepożądane cechy sensoryczne są określane jako smak i zapach ziemisty, stęchły (ang. *earthy-musty taste and odor*) (Liato i Aïder, 2017; Zaitlin i Watson, 2006) lecz nie gorzki (ang. *bitterness*). Geosmina jest drugorzędowym metabolitem mikroorganizmów zwanych promieniowcami oraz sinic i występuje w wodzie pitnej, nadając jej niekorzystny smak i zapach (Srinivasan i Sorial, 2011). Chociaż geosmina jest metabolitem wtórnym wytwarzanym głównie przez promieniowce, jej pochodzenie jako metabolitu wtórnego przypisuje się również pierwotniakom, pleśniom, i grzybom (Hayes S.J., Hayes K.P. i Robinson, 1991; La Guerche, Chamont, Blancard, Dubourdieu i Darriet, 2005; Schnürer, Olsson i Börjesson, 1999; Watson, Ridal, Zaitlin i Lo, 2003). To właśnie geosmina syntetyzowana przez grzyby powoduje smak ziemisty (ang. *earthy-musty taste*) (Correia, 2011).

Według Nakamury i Daishimy (2005) geosmina powoduje ziemisty zapach wody pitnej i może być wyczuwalna przy bardzo niskich stężeniach 4 ng/l, a według Young, Horth, Crane, Ogden i Arnot (1996) przy stężeniu 2 ng/l.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń niniejszej pracy smak gorzki buraka ćwikłowego jest powodowany obecnością saponin triterpenowych.

Podsumowując, obróbka termiczna surowca, konieczna w celu otrzymania gotowego przetworu spożywczego z buraków i długotrwałe przechowywanie przed spożyciem gotowych przetworów z buraka powodują zmiany smaku. Przetwory buraka ćwikłowego charakteryzują się mniejszą intensywnością cech goryczkowych niż surowiec. Póroczne przechowywanie przetworów z buraka ćwikłowego wpływa dodatkowo na obniżenie natężenia odczuwania smaku gorzkiego w porównaniu do smaku przetworów nieprzechowywanych.

Z rezultatów badań opisanych w dalszej części monografii dotyczących przyczyn smaku gorzkiego w burakach ćwikłowych wynika, że występujące odmiany buraka ćwikłowego różnią się między sobą składem i stężeniem saponin triterpenowych, co istotnie wpływa na jakość wyprodukowanych z nich przetworów spożywczych. Saponiny triterpenowe, jako naturalne związki gorzkie obecne w świeżych burakach ćwikłowych, ulegają częściowej degradacji w czasie obróbki termicznej przetworów buraczanych oraz podczas ich przechowywania, w efekcie wpływając na zmiany smaku produktów buraka ćwikłowego (obniżając smak gorzki).

4. ANALIZA TOWAROZNAWCZA BURAKA ĆWIKŁOWEGO I JEGO PRODUKTÓW

4.1. Analiza jakościowa surowca

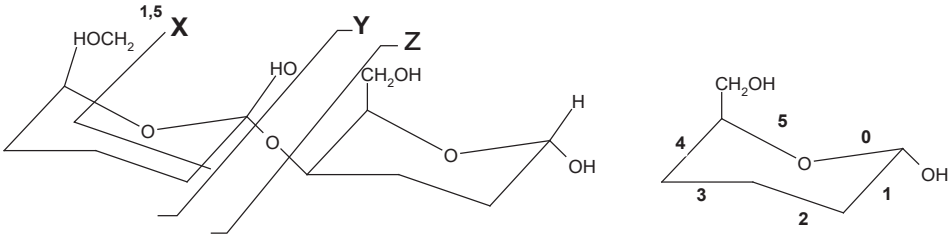
Jakość produktów spożywczych jest determinowana w dużym stopniu składnikami, z których produkty zostały wyprodukowane. Jakość produktów spożywczych decyduje o ich wartości zdrowotnej i sensorycznej, wpływając tym samym na ocenę gotowego produktu spożywczego przez konsumenta. Odmiany buraka ćwikłowego różnią się składem jakościowym i ilościowym, co wpływa na jakość wyprodukowanych przetworów z tego surowca. W pracy określono skład jakościowy i ilościową zawartość saponin triterpenowych stanowiących naturalne substancje obecne w buraku ćwikłowym. Materiałem do badań były korzenie buraka ćwikłowego trzech odmian: Bonel, Chrobry i Nochowski, pochodzących ze zbioru z 2013 roku. Odmiany te zostały wybrane na podstawie wyników analiz sensorycznych świeżych korzeni 10 odmian buraka ćwikłowego, z których wybrano dwie odmiany najbardziej gorzkie (Chrobry i Nochowski) oraz trzecią odmianę buraka o niewyczuwalnym natężeniu smaku gorzkiego (Bonel). Przeprowadzenie dalszych analiz polegało na wieloetapowych izolacjach mieszanin saponin (rysunek 5) oraz zastosowaniu ekstrakcji do fazy stałej SPE (ang. *solid phase extraction*, SPE) mających na celu oczyszczenie wyizolowanych mieszanin saponin, w wyniku których, w otrzymanych ekstraktach zawierających saponiny triterpenowe określono skład jakościowy i ilościową ich zawartość. Ekstrakty zawierające mieszaniny saponin triterpenowych zostały wyizolowane osobno ze skóry i miąższu świeżych korzeni buraka ćwikłowego odmian Bonel, Chrobry i Nochowski oraz z ich przetworów ogrzewanych (100˚C/30min) i przechowywanych (6 miesięcy/4˚C) po uprzednim ogrzewaniu (100˚C/30min). Dodatkowo określono skład jakościowy saponin triterpenowych wyizolowanych ze skóry i miąższu korzeni buraka ćwikłowego odmiany Nochowski, pochodzących z 2012 roku. Analiza ta miała na celu porównanie składu jakościowego mieszaniny saponin z korzeni buraka ćwikłowego jednej odmiany (Nochowski) pochodzącej ze zbioru z dwóch następujących po sobie sezonów wegetacyjnych.

4.1.1. Określenie składu jakościowego saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego

Zastosowanie tandemowej spektrometrii mas w analizach HPLC oraz wysokorozdzielczej spektrofometrii mas w UPLC umożliwiło oznaczenie wstępne składu chemicznego saponin triterpenowych obecnych w burakach ćwikłowych.

Dzięki wykorzystaniu analiz spektrometrii mas z zastosowaniem pułapki jonowej możliwe było uzyskanie fragmentacji jonu molekularnego cząsteczek. Dodatkowe analizy pozwoliły na określenie składu elementarnego analizowanych związków. W celu określenia składu elementarnego saponin przeprowadzono pomiar masy molowej z dokładnością do czwartego miejsca po przecinku, stosując ultrasprawny chromatograf cieczowy Acquity (Waters, Milford, USA) połączony z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap (Q ExactiveTM, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA). Analizy HPLC-MS przeprowadzono w jonizacji ujemnej.

W identyfikacji cukrów w mieszaninie saponin zastosowano metodę zaproponowaną przez Domona i Costello (rysunek 12), podającą nazewnictwo jonów fragmentacyjnych otrzymywanych w spektrometrii mas oligosacharydów. Fragmenty rozpadowe cząsteczki cukru nazwano odpowiednio X, Y oraz Z, w zależności od sposobu rozerwania cząsteczki cukru, a rozerwaniu może ulec pierścień lub wiązanie glikozydowe (rysunek 12). W wykładniku fragmentu X opisano liczby określające rozrywane wiązania, ponumerowane zgodnie z opisem na rysunku.



Rysunek 12. Nazewnictwo jonów fragmentacyjnych cukrów w saponinach buraka ćwikłowego, według metody Domona i Costella

Źródło: Na podstawie: (Domon i Costello, 1988; Hoffmann, Charette i Stroobant, 1998).

Identyfikację saponin triterpenowych wyizolowanych ze skóry i miąższu korzeni buraków ćwikłowych odmiany Nochowski otrzymanych ze zbioru z 2012 i 2013 roku oraz saponin z odmian Bonel i Chrobry otrzymanych ze zbioru z 2013 roku przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Saponiny triterpenowe różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. zidentyfikowane za pomocą analiz HPLC-ESI-MS/MS

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	Struktura chemiczna saponiny	*m/z*[b] $[M-H]^-$	Wzór sumaryczny (δ ppm)[c]	Nochowski				Chrobry		Bonel		Literatura
					Miąższ 2012	Skóra 2012	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	
1	29,1	Hex-Hex-UrA-kwas akebonowy	939,4603	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,384)	+	+	+	+	+	–	–	+	
2	29,5	Hex-Hex-UrA-hederagenina	971,4876	$C_{48}H_{75}O_{20}$ (2,470)	–	+	–	+	–	–	–	–	Mroczek i in., 2012
2[d], 3[e]	29,9	Hex-Hex-Pen-UrA – kwas akebonowy	1071,5029	$C_{52}H_{79}O_{23}$ (1,587)	+	+	+	+	+	+	+	+	
4[e]	30,5	Hex-Hex-UrA – kwas akebonowy	939,4601	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,171)	+	+	+	+	–	–	–	–	
3[d], 5[e]	31,2	Hex-UrA-hederagenina	809,4329	$C_{42}H_{65}O_{15}$ (0,618)	+	+	+	+	+	+	–	+	Mroczek i in., 2012
6[e]	31,6	Act-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4536	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (–0,314)	+	–	+	+	–	–	–	–	
4[d], 7[e]	32,0	Hex-Pen-UrA-hederagenina	941,4752	$C_{47}H_{73}O_{19}$ (0,637)	+	+	+	+	+	+	+	+	
5[d], 8[e]	32,4	Hex-Pen-UrA – kwas akebonowy	909,4491	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (0,770)	+	+	+	+	–	+	–	–	Yoshikawa i in., 1998[f]
6[d], 9[e]	33,0	Act-Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	1117,5070	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,268)	–	–	+	+	–	+	–	+	Yoshikawa i in., 1998[g]
7[d], 10[e]	33,3	Act-Hex-UrA-hederagenina	971,4493	$C_{47}H_{71}O_{21}$ (0,515)	+	+	+	+	+	+	–	+	Yoshikawa i in., 1998
8[d], 11[e]	34,1	Hex-Pen-UrA – kwas akebonowy	909,4495	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (1,210)	+	+	+	+	+	+	+	+	[f]
11[d]	34,9	Hex-Pen-UrA – kwas akebonowy	909,4497	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (1,452)	–	–	–	–	+	+	+	+	
9[d], 12[e]	34,9	Hex-UrA – kwas akebonowy	777,4066	$C_{41}H_{61}O_{14}$ (0,643)	+	+	+	+	+	+	–	+	

cd. tabeli 6

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	Struktura chemiczna saponiny	m/z[b] $[M-H]^-$	Wzór sumaryczny (δ ppm)[c]	Nochowski				Chrobry		Bonel		Literatura
					Miąższ 2012	Skóra 2012	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	
10d, 13e	35.4	Hex-Hex-Pen-UrA-kwas oleanolowy	1087,5339	$C_{53}H_{83}O_{23}$ (1.287)	+	+	+	+	+	+	+	+	Mroczek i in., 2012
14[e]	35,6	Act-Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	1117,5069	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,179)	–	–	+	+	–	–	–	–	g
12[d], 15[e]	36,7	Hex-UrA-gipsogenina	807,4176	$C_{42}H_{63}O_{15}$ (1,115)	–	+	–	+	–	+	–	–	
13[d], 16[e]	37,0	Act-Hex-UrA – kwas akebonowy	939,4232	$C_{46}H_{67}O_{20}$ (0,639)	+	+	+	+	+	+	+	+	Yoshikawa i in., 1998
14[d], 17[e]	38,3	Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4909	$C_{48}H_{75}O_{19}$ (0,628)	+	+	+	+	+	+	+	+	
15[d], 18[e]	39,1	Hex-Pen-Hex-UrA – kwas oleanolowy	1087,5331	$C_{53}H_{83}O_{23}$ (0,552)	+	+	+	+	+	+	+	+	
18[d]	40,8	Hex-Pen-Pen-UrA – kwas oleanolowy	1057,5233	$C_{52}H_{81}O_{22}$ (1,297)	–	–	–	–	+	+	–	–	
16[d], 19[e]	39,6	Act-Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	1117,5071	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,358)	+	+	+	+	+	+	–	+	g
17[d], 20[e]	39,9	Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4913	$C_{48}H_{75}O_{19}$ (1,047)	+	+	+	+	+	+	–	+	
19[d], 21[e]	41,1	Act-Hex-Pen-UrA – kwas oleanolowy	1087,4965	$C_{52}H_{79}O_{24}$ (0,368)	+	+	+	+	+	+	+	+	Yoshikawa i in., 1998
20[d], 22[e]	41,5	Hex-Pen-UrA – kwas oleanolowy	925,4807	$C_{47}H_{73}O_{18}$ (1,081)	+	+	+	+	+	+	–	+	Mroczek i in., 2012
23[e]	42,1	$C_5H_4O_5$-Hex-UrA – kwas akebonowy	921,4117	$C_{46}H_{65}O_{19}$ (–0,326)	+	+	–	–	–	–	–	–	
21[d], 24[e]	43,0	Act-Hex-Hex-UrA – kwas oleanolowy	1117,5076	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,805)	+	+	+	+	+	+	–	+	g

25[e]	43,3	Act-UrA – kwas oleanolowy	793,4018	$C_{41}H_{61}O_{15}$ (1,008)	+	+	+	+	–	–	–	–	
22[d], 26[e]	43,3	Hex-dHex-UrA – kwas oleanolowy	939,4962	$C_{48}H_{75}O_{18}$ (0,958)	+	+	+	+	+	+	+	+	
23[d], 27[e]	43,5	Hex-Pen-UrA – kwas oleanolowy	925,4805	$C_{47}H_{73}O_{18}$ (0,864)	+	+	+	+	+	+	+	+	Mroczek i in., 2012
24[d], 28[e]	44,4	Hex-UrA-oleanolic acid	793,4377	$C_{42}H_{65}O_{14}$ (0,378)	+	+	+	+	+	+	+	+	Mroczek i in., 2012
25[d], 29[e]	45,0	Diox-Hex-UrA – kwas oleanolowy	953,4388	$C_{47}H_{69}O_{20}$ (0,629)	+	+	+	+	+	+	+	+	Yoshikawa i in., 1996
30[e]	45,7	Act-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4542	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (0,314)	–	+	–	–	–	–	–	–	Yoshikawa i in., 1996[h]
26[d], 31[e]	46,4	Act-Hex-UrA-oleanolic acid	955,4544	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (0,523)	+	+	+	+	+	+	+	+	[h]
27[d], 32[e]	48,5	$C_4H_4O_5$-Hex-UrA – kwas oleanolowy	925,4440	$C_{46}H_{69}O_{19}$ (0,523)	+	+	+	+	+	+	+	+	
28[d], 33[e]	52,5	$C_5H_4O_5$-Hex-UrA – kwas oleanolowy	937,4443	$C_{47}H_{69}O_{19}$ (1,067)	+	+	+	+	+	+	+	+	
29[d], 34[e]	53,9	UrA-Hex-UrA – kwas oleanolowy	969,4697	$C_{48}H_{73}O_{20}$ (0,206)	+	+	+	+	+	+	+	+	
30[d], 35[e]	55,0	UrA-Hex-UrA – kwas oleanolowy	969,4699	$C_{48}H_{73}O_{20}$ (0,413)	+	+	+	+	+	+	+	+	
36[e]	56,9	Act-dHex-UrA – kwas oleanolowy	939,4600	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,064)	+	+	–	–	–	–	–	–	
31[d], 37[e]	57,2	Pen-UrA-hederagenina	779,4221	$C_{41}H_{63}O_{14}$ (0,385)	+	–	–	+	–	+	–	+	
37[d]	58,5	Diox-UrA – kwas oleanolowy	791,3860	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,745)	–	–	–	–	–	–	–	+	
32[d], 38[e]	57,3	Act-dHex-UrA – kwas oleanolowy	939,4601	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,171)	+	+	+	+	+	–	+	+	

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	Struktura chemiczna saponiny	m/z[b] $[M-H]^-$	Wzór sumaryczny (δ ppm)[c]	Nochowski				Chrobry		Bonel		Literatura
					Miąższ 2012	Skóra 2012	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	Miąższ 2013	Skóra 2013	
33[d], 39[e]	57.7	Act-UrA-hederagenina	809,3967	$C_{41}H_{61}O_{16}$ (0,865)	+	+	+	+	+	+	+	+	Yoshikawa i in., (1998)
34[d]	57,9	UrA-UrA – hederagenina	823,4120	$C_{42}H_{63}O_{16}$ (0,534)	–	–	–	–	–	+	–	–	
35[d], 40[e]	58.1	Act-UrA – kwas akebonowy	777,3702	$C_{40}H_{57}O_{15}$ (0,515)	+	+	+	+	+	-	+	+	
36[d], 41[e]	58,3	Pen-UrA – kwas oleanolowy	763,4269	$C_{41}H_{63}O_{13}$ (0)	+	+	+	+	–	+	+	–	Mroczek i in., 2012
42[e]	58,6	UraA-UrA – kwas akebonowy	791,3861	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,885)	–	+	–	–	–	–	–	–	
38[d]	58,8	UrA – kwas oleanolowy	631,3846	$C_{36}H_{55}O_9$ (0,032)	–	–	–	–	+	+	–	–	
39[d], 43[e]	59,0	Act-UrA – kwas oleanolowy	793,4015	$C_{41}H_{61}O_{15}$ (0,504)	+	+	+	+	+	+	+	+	Yoshikawa i in., 1998
40[d], 44[e]	60,3	Diox-UrA-kwas oleanolowy	791,3859	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,632)	–	–	+	–	+	–	+	+	Yoshikawa i in., 1996

Hex – heksoza, dHex – deoksyheksoza, Pen – pentoza, UrA – kwas uronowy, Act – podstawnik acetalowy, Diox – podstawnik dioksolanowy.
[a] Czas retencji poszczególnych pików.
[b] Jony o określonym stosunku wartości masy do liczby ładunków elektronów (*m/z*), poszczególnych saponin obserwowanych na widmie masowym w trybie jonów ujemnych $[M-H]^-$.
[c] (δ ppm) Różnica teoretycznej i zmierzonej masy jonu pseudomolekularnego, podzielona przez teoretyczną masę jonu pseudomolekularnego.
[d] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Bonel i/lub Chrobry.
[e] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Nochowski.
[f, g, h] Jeden izomer został zidentyfikowany w literaturze.
+ Oznacza zidentyfikowaną saponinę w badanej próbie.
– Oznacza brak saponiny w badanej próbie.

Źródło: Badania własne; (Mikołajczyk-Bator i in., 2016a).

Obliczona w tabeli 6 i 13 wartość delty ppm (δ ppm) jest dokładnością pomiaru masy, która wynika z poniższego wzoru:

$$\delta \text{ ppm} = \frac{(\text{teoretyczna masa jonu}) - (\text{zmierzona masa jonu})}{\text{teoretyczna masa jonu pseudomolekularnego}}.$$

Za pomocą dokładnego pomiaru masy wykonanej dzięki wysokorozdzielczej spektometrii mas stwierdzono, że w widmie masowym analizowanej próbki obecny był sygnał pochodzący od jonu, którego masa odpowiadała założonemu wzorowi sumarycznemu. W większości czasopism naukowych wymagania dotyczące dokładnych pomiarów masy wskazują, że wartość ta nie powinna przekraczać 5 ppm (w niektórych czasopismach dopuszcza się 10 ppm jedynie dla wyższych mas jonów).

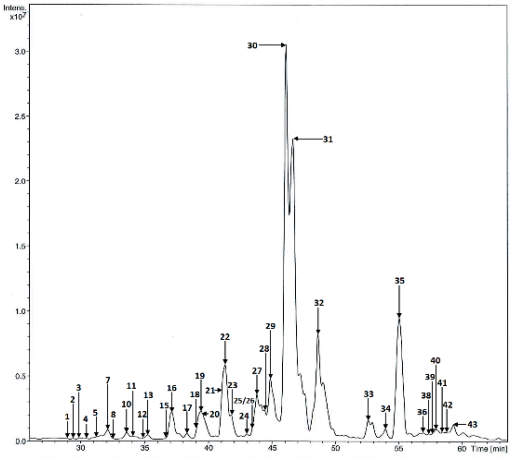
Niektóre parametry przedstawione w tabeli 6, 8 i 13 (czas retencji (t_R), *m/z* oraz wartość δ ppm) podano dla pierwszej zidentyfikowanej saponiny z odmiany buraka Nochowski, ze skóry, 2012 rok, a w przypadku braku obecności tej saponiny – dla saponiny z odmiany Chrobry, skóra.

Łącznie w trzech odmianach buraków ćwikłowych zidentyfikowano 49 różnych saponin triterpenowych, z których 42 nie zostało wcześniej zidentyfikowanych w korzeniach buraków ćwikłowych i opisanych w literaturze, a 32 saponiny zostały wstępnie zidentyfikowane jako potencjalnie nowe saponiny. Spośród tych 32 saponin, 27 potencjalnie nowych związków opisano w odmianie Nochowski i przedstawiono w publikacji Mikołajczyk-Bator i in. (2016a), natomiast pięć pozostałych saponin wstępnie zidentyfikowano po raz pierwszy w korzeniach buraków ćwikłowych dwóch odmian Bonel i Chrobry, tj. saponiny dającej na widmie masowym sygnał jonu pseudomolekularnego o *m/z* 631,3846 (Chrobry skóra, miąższ), 791,3860 (Bonel skóra), 823,4120 (Chrobry skóra), 909,4497 (Chrobry, Bonel) i 1057,5233 (Chrobry skóra, miąższ) $[M\text{-}H]^-$. Chromatogramy HPLC--ESI/MS poszczególnych ekstraktów saponin (mieszanin saponin triterpenowych) przedstawiono na rysunku 13.

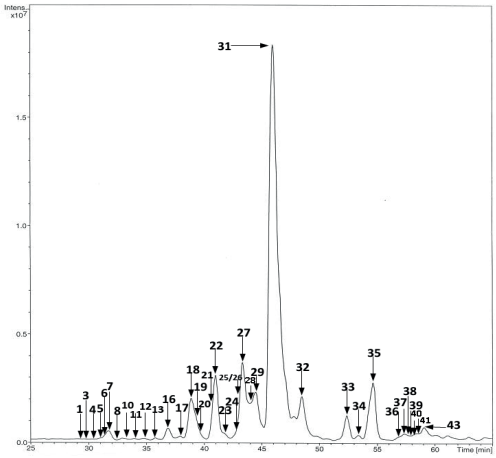
Saponiny triterpenowe występujące w odmianach korzeni buraków Chrobry i Nochowski są glikozydami czterech różnych aglikonów: kwasu oleanolowego, hederageniny, kwasu akebonowego i gipsogeniny, których *m/z* wynosi kolejno 455,3525, 471,3474, 439,3212 i 469,3318 $[M\text{-}H]^-$. Struktury chemiczne cząsteczek aglikonów saponin triterpenowych występujących w buraku ćwikłowym przedstawiono na rysunku 14. Saponiny z rzadko występującym aglikonem w buraku ćwikłowym – gipsogeniną – zidentyfikowano tylko w skórach dwóch odmian – Nochowski i Chrobry (tabela 7). Natomiast w odmianie Bonel występują tylko trzy pierwsze aglikony.

Większość wstępnie zidentyfikowanych saponin to pochodne glikozydowe kwasu oleanolowego, których obecność stwierdzono w 17–23 saponinach, w zależności od odmiany buraka i jego części (tabela 7). Kwas akebonowy stanowił

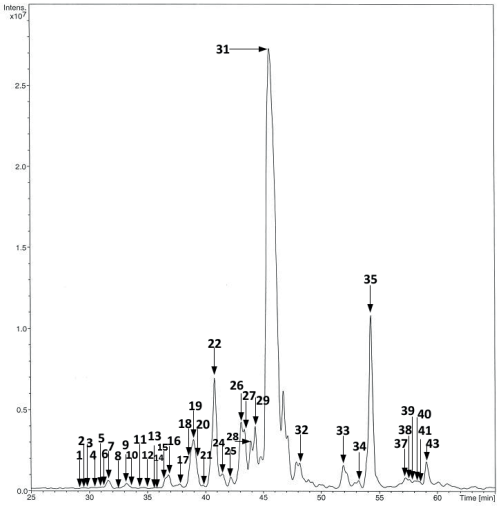
Nochowski skóra 2012



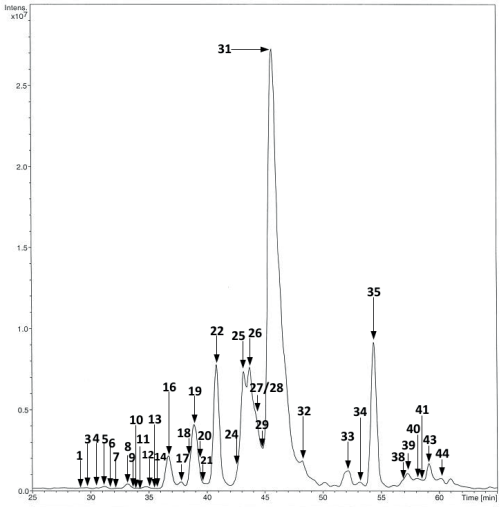
Nochowski miąższ 2012



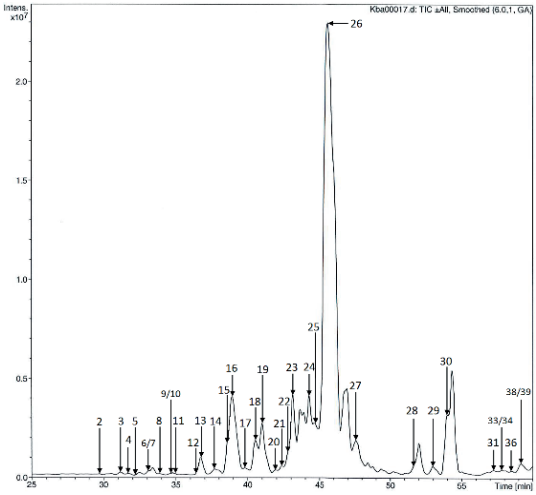
Nochowski skóra 2013



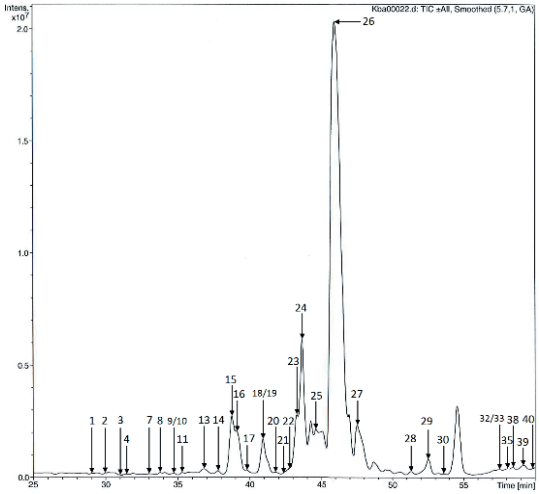
Nochowski miąższ 2013



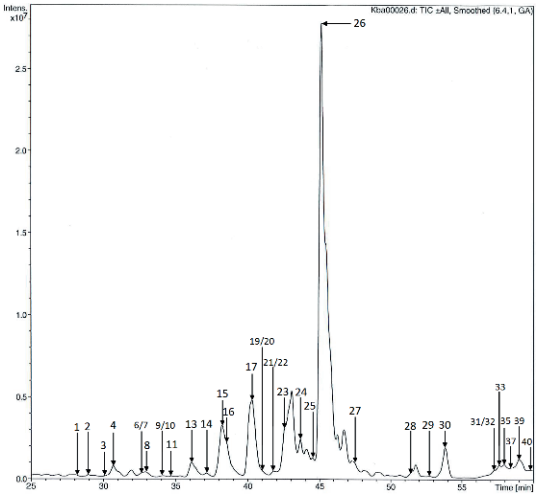
Chrobry skóra 2013



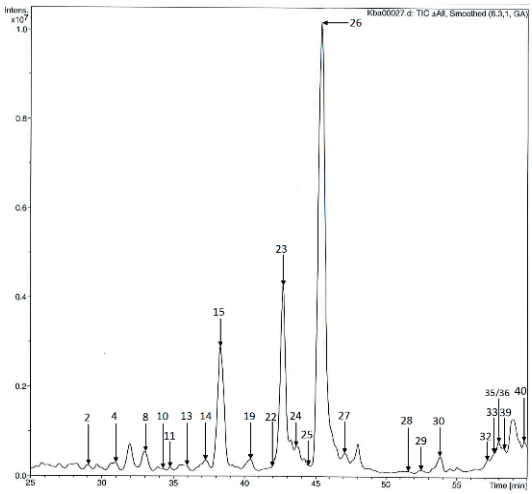
Chrobry miąższ 2013



Bonel skóra 2013



Bonel miąższ 2013



[1–44] Liczbami oznaczono numery pików zidentyfikowanych saponin (opis w tabeli 6)

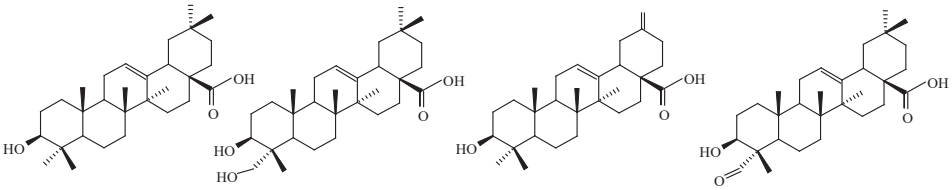
Rysunek 13. Chromatogramy HPLC-ESI/MS ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych z różnych odmian i części korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L.

Źródło: Badania własne (Mikołajczyk-Bator i in., 2016a).

aglikon w kilku (5–10) saponinach każdej z badanych odmian buraków, podobnie hederagenina – obecność tego aglikonu stwierdzono wśród kilku (2–6) saponin każdej analizowanej odmiany buraka ćwikłowego. Jedynie gipsogenina została zidentyfikowana tylko w jednej saponinie dającej sygnał jonu o *m/z* 807,4176 $[M\text{-}H]^-$ i wzorze sumarycznym $C_{42}H_{64}O_{15}$, występującej w skórze odmiany korzeni Nochowski pochodzących z 2012 i 2013 roku oraz w tej samej saponinie z jonem pseudomolekularnym o *m/z* 807,4180 $[M\text{-}H]^-$ ($C_{42}H_{64}O_{15}$) zidentyfikowanej również w skórze, ale innej odmiany – Chrobry (tabela 6).

Tabela 7. Rodzaje i liczba występujących aglikonów w korzeniach różnych odmian buraka ćwikłowego

Rodzaj aglikonu	Bonel		Chrobry		Nochowski			
	skóra 2013	miąższ 2013	skóra 2013	miąższ 2013	skóra 2013	miąższ 2013	skóra 2012	miąższ 2012
Kwas oleanolowy	22	17	22	22	24	25	23	23
Kwas akebonowy	7	5	6	7	8	8	10	9
Hederagenina	5	2	6	4	6	4	5	5
Gipsogenina	–	–	1	–	1	–	1	–
Suma saponin	34	24	35	33	39	37	39	37



Kwas oleanolowy $C_{30}H_{48}O_3$ (455,3526) | Hederagenina $C_{30}H_{48}O_4$ (471,4347) | Kwas akebonowy $C_{29}H_{44}O_3$ (439,3212) | Gipsogenina $C_{30}H_{46}O_4$ (469,3318)

W nawiasie podano $[\text{Aglikon-}H]^-$ *m/z*

Rysunek 14. Struktury chemiczne aglikonów saponin buraka ćwikłowego

Źródło: Badania własne.

Spośród zidentyfikowanych 49 saponin stwierdzono obecność dziesięciu grup izomerów występujących w odmianie buraka ćwikłowego Nochowski, ośmiu grup izomerów w odmianie Bonel i siedmiu grup izomerów w odmianie Chrobry (tabela 8). W ostatnich dwóch odmianach buraka ćwikłowego nie występują izomery z jonem saponiny o *m/z* 793,4 i wzorze sumarycznym $C_{41}H_{62}O_{15}$ oraz z jonem saponiny o *m/z* 955,4 i wzorze sumarycznym $C_{47}H_{72}O_{20}$, jak to ma miejsce w przypadku odmiany buraka Nochowski. Dodatkowo w odmianie buraka Chrobry nie zidentyfikowano izomerów (obecnej w tej odmianie) saponiny dającej sygnał jonu pseudomolekularnego o *m/z* 791 $[M\text{-}H]^-$.

Tabela 8. Charakterystyka grup izomerów obecnych w ekstraktach saponin wyizolowanych z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.)

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	m/z[b] $[M-H]^-$	Wór sumaryczny	MS^2 [m/z][c]	Chrobry 2013 r.		Bonel 2013 r.		Nochowski 2013 r.		Nochowski 2012 r.	
					skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ
37	58,5	791,3860	$C_{41}H_{59}O_{15}$	$[M-Diox-H]^-$	–	–	+	–	–	–	–	–
40[d], 44[e]	59,7	791,3860	$C_{41}H_{59}O_{15}$	$[M-Diox-H]^-$	–	+	+	+	–	+	–	–
42	58,6	791,3861	$C_{41}H_{59}O_{15}$	$[M-C_4H_6O_5-H]^-$	–	–	–	–	–	–	+	–
25	43,3	793,4019	$C_{41}H_{61}O_{15}$	$[M-Act-H]^-$	–	–	–	–	+	+	+	+
43	59,0	793,4014	$C_{41}H_{61}O_{15}$	$[M-C_3H_4O_5-H]^-$	–	–	–	–	+	+	+	+
5[d], 8[e]	32,0	909,4493	$C_{46}H_{69}O_{18}$	$[M-Hex-H]^-$	+	–	–	–	+	+	+	+
8[d], 11[e]	33,8	909,4495	$C_{46}H_{69}O_{18}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
11	34,9	909,4497	$C_{46}H_{69}O_{18}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	–	–	–	–
20[d], 22[e]	41,8	925,4807	$C_{47}H_{73}O_{18}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	–	+	+	+	+
23[d], 27[e]	43,1	925,4810	$C_{47}H_{73}O_{18}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
1	28,8	939,4603	$C_{47}H_{71}O_{19}$	$[M-Hex-H]^-$	–	+	+	–	+	+	+	+
4	30,5	939,4601	$C_{47}H_{71}O_{19}$	$[M-Hex-H]^-$	–	–	–	–	+	+	+	+
36	56,9	939,4599	$C_{47}H_{71}O_{19}$	$[M-C_3H_6O_3-H]^-$	–	–	–	–	–	–	+	+
32[d], 38[e]	57,4	939,4595	$C_{47}H_{71}O_{19}$	$[M-C_3H_4O_5-H]^-$	–	+	+	+	+	+	+	+
6	31,6	955,4536	$C_{47}H_{71}O_{20}$	$[M-Act-H]^-$	–	–	–	–	+	+	–	+
30	45,7	955,4542	$C_{47}H_{71}O_{20}$	$[M-C_3H_4O_5-H]^-$	–	–	–	–	–	–	+	–
26[d], 31[e]	46,4	955,4544	$C_{47}H_{71}O_{20}$	$[M-C_3H_4O_5-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
14[d], 17[e]	37,6	955,4909	$C_{48}H_{75}O_{19}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
17[d], 20[e]	39,9	955,4913	$C_{48}H_{75}O_{19}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	–	+	+	+	+
29[d], 34[e]	52,9	969,4703	$C_{48}H_{73}O_{20}$	$[M-UrA-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
30[d], 35[e]	53,9	969,4701	$C_{48}H_{73}O_{20}$	$[M-C_4H_6O_5-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
10[d], 13[e]	34,6	1087,5337	$C_{53}H_{83}O_{23}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
15[d], 18[e]	38,5	1087,5331	$C_{53}H_{83}O_{23}$	$[M-Hex-H]^-$	+	+	+	+	+	+	+	+
6[d], 9[e]	33,0	1117,5071	$C_{53}H_{81}O_{25}$	$[M-Act-H]^-$	+	–	+	–	+	+	–	–
14[e]	35,6	1117,5071	$C_{53}H_{81}O_{25}$	$[M-Act-H]^-$	–	–	–	–	+	+	–	–
16[d], 19[e]	39,6	1117,5071	$C_{53}H_{81}O_{25}$	$[M-Act-H]^-$	+	+	+	–	+	+	+	+
21[d], 24[e]	42,3	1117,5074	$C_{53}H_{81}O_{25}$	$[M-Act-H]^-$	+	+	+	–	+	+	+	+

Hex – heksoza, UrA – kwas uronowy, Act – podstawnik acetalowy, Diox – podstawnik dioksolanowy.

[a] Czas retencji poszczególnych pików.

[b] Jony o określonym stosunku masy do ładunku (m/z) poszczególnych saponin obserwowanych na widmie masowym w trybie jonów ujemnych $[M-H]^-$.

[c] MS^2 oznacza sposób pracy spektrometru mas wyposażonego w pułapkę jonową selekcjonującą jony jednego typu, poddającą je dalszej fragmentacji, w wyniku której powstają jony potomne, których masa podlega pomiarowi.

[d] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Bonel i Chrobry.

[e] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Nochowski.

+ Oznacza zidentyfikowaną saponinę w badanej próbie.

– Oznacza brak saponiny w badanej próbie.

Źródło: Badania własne.

Uwagę zwraca fakt, że spośród 10 grup izomerów, które zostały zidentyfikowane w korzeniach badanych odmian buraka ćwikłowego, w obrębie aż dwóch grup izomerów występują różne aglikony (tabela 8). W pierwszej grupie znajdują się trzy saponiny dające w widmie masowym sygnał jonu pseudomolekularnego o *m/z* 791 $[M-H]^-$ i wzorze sumarycznym $C_{41}H_{60}O_{15}$, zawierające dwa różne aglikony w swojej strukturze: kwas oleanolowy i akebonowy, przy czym w saponinie z kwasem akebonowym (saponina 42) nie występuje podstawnik dioksolanowy, jak to ma miejsce w przypadku dwóch pozostałych izomerów. W grupie tej znajdują się saponiny z numerami pików 37 (t_R = 58,5), 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) i 42 (t_R = 58,6), których dwie saponiny 37 (t_R = 58,5) i saponina 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) zawierają w swojej strukturze kwas oleanolowy jako aglikon, a w trzeciej saponinie 42 (t_R = 58,6) aglikonem jest kwas akebonowy.

Ponadto ścieżki fragmentacji jonów pseudomolekularnych $[M-H]^-$ tych saponin, prowadzące do jonów fragmentacyjnych i w konsekwencji określenia rodzaju aglikonu tych saponin, są odmienne. W saponinie 37 (t_R = 58,5) zaobserwowanej tylko w skórze odmiany buraka Bonel, w wyniku fragmentacji jonu pseudomolekularnego o *m/z* 791,3860 powstają jony fragmentacyjne o *m/z* 671 i *m/z* 631, będące skutkiem oderwania fragmentu 120 Da od kwasu glukuronowego i eliminacji podstawnika dioksolanowego. W wyniku fragmentacji jonu pseudomolekularnego 791,3859 w kolejnej saponinie nr 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) otrzymano jony fragmentacyjne o *m/z* 747 i *m/z* 631 powstałe na skutek oderwania się cząsteczki CO_2 i podstawnika dioksolanowego (160 Da). **W dalszych ścieżkach fragmentacji tych jonów fragmentacyjncyh (w obu saponinach 37 i 40/44) obserwowany sygnał jonu o *m/z* 455 stanowił aglikon kwasu oleanolowego.** Natomiast w ostatniej saponinie 42 (t_R = 59,7) jon pseudomolekularny o *m/z* 791,3861 uległ fragmentacji do jonów potomnych o *m/z* 657 i *m/z* 615, które powstają odpowiednio w wyniku rozerwania pierścienia kwasu glukuronowego $^{0,2}X$ i oderwania się fragmentu 134 Da ($C_4H_6O_5$) od cząsteczki kwasu glukuronowego oraz eliminacji kwasu glukuronowego (176 Da). **Jak wykazały dalsze ścieżki fragmentacji jonów potomnych saponiny 42 (t_R = 59,7), aglikonem jest kwas akebonowy, dający charakterystyczny jon o *m/z* 439** w widmie MS/MS, a jego dokładną masę cząsteczkową z czterema miejscami po przecinku ($C_{29}H_{44}O_3$, 439,3212) ustalono stosując system UPLC połączony z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap.

Na podstawie analiz widm otrzymanych z rozdziału mieszanin saponin dwiema metodami chromatograficznymi (HPLC/ESI-IT-MS i UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS), stosując wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) połączoną z tandemową spektrometrią mas (MS/MS^n) oraz ultrasprawną chromatografię cieczową (UPLC) połączoną z HR spektrometrią mas, stwierdzono że **saponiny 37, 40/44 oraz 42 różnią się aglikonami oraz podstawnikami przyłączonymi do aglikonu** (rysunek 15).

Spośród analizowanych odmian buraków saponinę 37 (t_R = 58,5) zidentyfikowano tylko w skórze odmiany korzeni buraka Bonel, a saponinę 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) we wszystkich badanych odmianach buraka, natomiast saponinę 42 (t_R = 58,6) tylko w skórze jednej odmiany korzeni buraka – Nochowski (z 2012 r.).

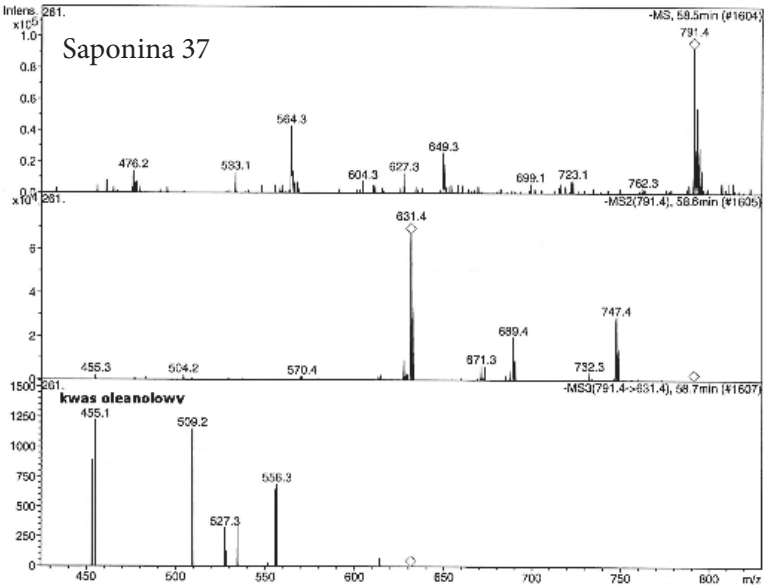
Saponina dająca w widmie masowym sygnał jonu o *m/z* 791 $[M-H]^-$, zawierająca kwas oleanolowy jako aglikon oraz nietypowy podstawnik dioksolanowy w swojej strukturze, została wcześniej zidentyfikowana w korzeniach buraka cukrowego przez zespół naukowców Yoshikawa i in. (1999) i nazwana betawulgarozydem II. W niniejszej pracy, dzięki zastosowaniu dwóch metod chromatograficznych (HPLC/ESI-IT-MS i UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS), możliwe było wykazanie obecności trzech izomerów tej saponiny (*m/z* 791 $[M-H]^-$) w korzeniach różnych odmian buraka ćwikłowego.

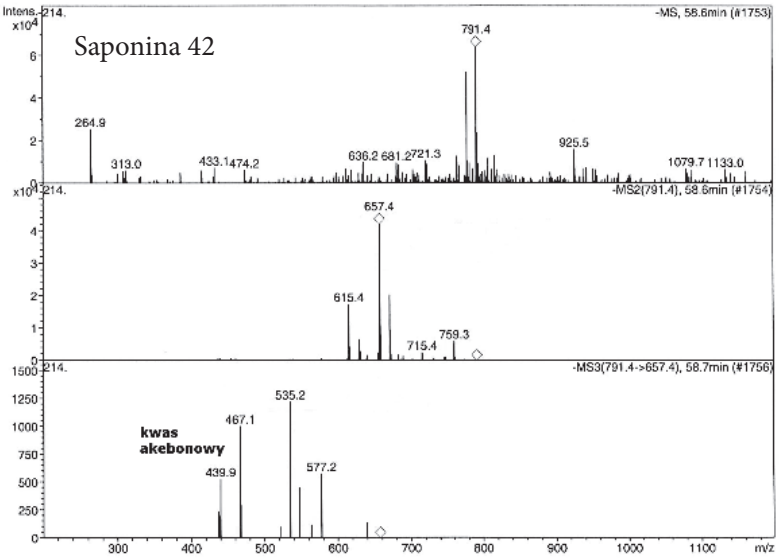
W drugiej grupie izomerów saponin o wzorze sumarycznym $C_{47}H_{72}O_{19}$ mających w swojej strukturze różne aglikony, znajdują się cztery saponiny, wśród których kwas akebonowy jest aglikonem dwóch saponin 1 (t_R = 28,8) i 4 (t_R = 30,5) z jonami pseudomolekularnymi o *m/z* 939,4603 i 939,4601, a kwas oleanolowy jest aglikonem w pozostałych saponinach 36 (t_R = 56,9, *m/z* 939,4599) i saponinie 32/ 38 (32 – Bonel, Chrobry t_R = 57,4; 38 – Nochowski t_R = 57,3, *m/z* 939,4595 $[M-H]^-$).

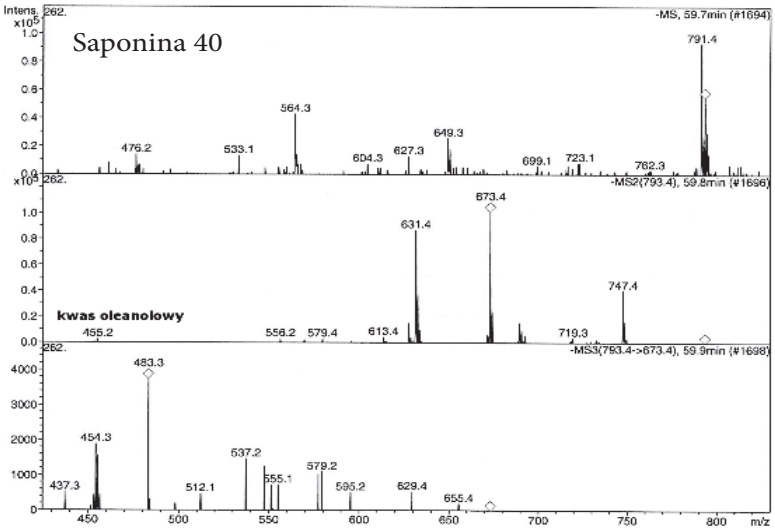
Podobnie jak w pierwszej grupie izomerów mających różne aglikony w strukturze saponin, w tej grupie izomerów saponin stwierdzono różne ścieżki fragmentacji ich jonów pseudomolekularnych prowadzących do określenia rodzaju aglikonu.

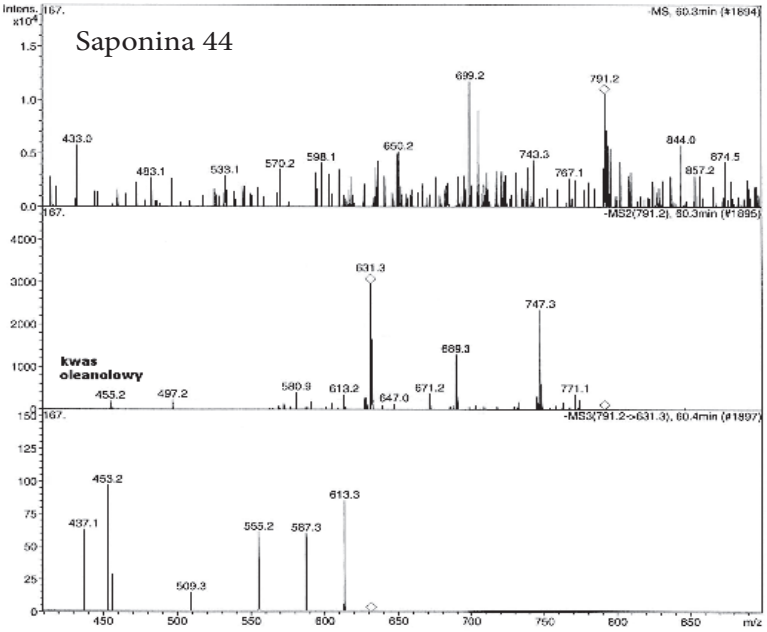
W saponinie 1 (t_R = 28,8) w wyniku rozpadu jonu pseudomolekularnego o *m/z* 939,4603 $[M-H]^-$) powstają jony potomne o *m/z* 819, 777 i 597, będące skutkiem w kolejności rozerwania pierścienia heksozy i oderwania fragmentu $^{0,2}X$ 120 Da ($C_4H_8O_4$) od tego pierścienia, eliminacji bezwodnego fragmentu heksozy (162 Da), eliminacji kolejnego bezwodnego fragmentu heksozy (162 Da) i cząsteczki heksozy (180 Da). Natomiast rozpad saponiny 4 (t_R = 30,5) przebiega z pominięciem rozerwania pierścienia heksozy, eliminacji ulega bezwodny fragment heksozy (162 Da). W wyniku dalszego rozpadu MS^n jonów fragmentacyjnych saponiny 1 (t_R = 28,8) i 4 (t_R = 30,5) określono rodzaj aglikonu, którym się okazał kwas akebonowy o *m/z* 439 $[M-H]^-$. Saponinę 1 (t_R = 28,8) zidentyfikowano w różnych częściach korzeni wszystkich analizowanych odmian buraka, a saponinę 4 (t_R = 30,5) tylko w jednej odmianie buraka ćwikłowego Nochowski. Związek ten zidentyfikowano zarówno w skórze, jak i w miąższu korzeni pochodzących z obu sezonów wegetacyjnych z 2012 i 2013 roku.

W saponinie 32/ 38 (32 – Bonel, Chrobry t_R = 57,4; 38 – Nochowski t_R = 57,3), w wyniku rozpadu jonu pseudomolekularnego o *m/z* 939,4595 $[M-H]^-$, powstają jony potomne o *m/z* 819, 777, 673 i 631, będące skutkiem w kolejności eliminacji fragmentu $C_3H_4O_5$ (120 Da), podstawnika acetalowego (162 Da), rozerwania pierścienia deoksyheksozy z odczepieniem fragmentu $^{0,2}X$ (104 Da) wraz z eliminacją


Saponina 37
Intens.
x10^5
-MS, 58.5min (#1604)
791.4
564.3
649.3
476.2
583.1
604.3
627.3
699.1
723.1
762.3
-MS2(791.4), 58.6min (#1605)
631.4
747.4
689.4
455.3
504.2
570.4
671.3
732.3
-MS3(791.4->631.4), 58.7min (#1607)
kwas oleanolowy
455.1
509.2
556.3
527.3
m/z


Saponina 42
Intens.
x10^4
-MS, 58.6min (#1753)
791.4
264.9
313.0
433.1
474.2
636.2
681.2
721.3
925.5
1079.7
1133.0
-MS2(791.4), 58.6min (#1754)
657.4
615.4
715.4
759.3
-MS3(791.4->657.4), 58.7min (#1756)
535.2
467.1
kwas
akebonowy
439.9
577.2
m/z





Rysunek 15. Widma MS^n jonu pseudomolekularnego *m/z* 791,3861 saponiny 37 (t_R = 58,5, Bonel), 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) i 42 (t_R = 58,6, Nochowski), które są dowodem na to, że podczas fragmentacji jon pseudomolekularny saponiny ulega rozpadowi do dwóch różnych aglikonów (kwasu oleanolowego i akebonowego)

Źródło: Badania własne.

podstawnika acetalowego (162 Da) oraz eliminacji cząsteczki deoksyheksozy z podstawnikiem acetalowym (146 Da i 162 Da).

W saponinie 36 (t_R = 56,9), w wyniku fragmentacji jonu pseudomolekularnego o *m/z* 939,4599 $[M-H]^-$, powstają jony potomne o *m/z* 849, 793 i 613, będące skutkiem w kolejności rozerwania pierścienia deoksyheksozy i oderwania fragmentu $^{1,4}X$ $C_3H_6O_3$ (90 Da), eliminacji cząsteczki deoksyheksozy (146 Da) i eliminacji kolejnej cząsteczki deoksyheksozy wraz z podstawnikiem acetalowym (146 Da i 162 Da). Szczegółowe ścieżki fragmentacji jonów pseudomolekularnych każdej zidentyfikowanej saponiny z korzeni buraka ćwikłowego odmiany Nochowski przedstawiono w publikacji Mikołajczyk-Bator i współpracownicy (2016a). Saponinę tę zidentyfikowano tylko w jednej odmianie buraka Nochowski zarówno w skórze, jak i w miąższu tego surowca, pochodzącej z jednego sezonu wegetacyjnego 2012 roku. Natomiast saponinę 32/38 (32 – Bonel, Chrobry t_R = 57,4; 38 – Nochowski t_R = 57,3) zidentyfikowano we wszystkich analizowanych odmianach korzeni buraka (tabela 8).

Spośród trzech izomerów saponiny posiadającej jon pseudomolekularny o *m/z* 909,4 $[M-H]^-$ i wzorze sumarycznym $C_{46}H_{70}O_{18}$ jeden z izomerów, tj. saponina 5/8 (5 – Chrobry t_R = 32,0; 8 – Nochowski t_R = 32,4), nie występuje w odmianie korzeni buraka Bonel, a drugi izomer, tj. saponina 11 (t_R = 34,9), nie występuje w odmianie korzeni buraka Nochowski pochodzących z obu sezonów wegetacyjnych z 2012 i 2013 roku.

W kolejnej grupie dwóch izomerów saponiny dającej jon o *m/z* 955 $[M-H]^-$ i wzorze sumarycznym $C_{48}H_{76}O_{19}$ izomer saponiny 17/20 (17 – Chrobry i Bonel t_R = 39,9; 20 – Nochowski t_R = 39,9) występuje we wszystkich analizowanych odmianach, jednak nie we wszystkich częściach korzeni. Izomer saponiny 14/17 (14 – Bonel, Chrobry t_R = 37,6; 17 – Nochowski t_R = 38,3) zidentyfikowano w skórach i miąższach wszystkich analizowanych odmian buraka ćwikłowego.

W grupie czterech izomerów saponiny o wzorze sumarycznym $C_{53}H_{82}O_{25}$, dającej jon o *m/z* 1117 $[M-H]^-$, izomer saponiny 14 (t_R = 35,6) występuje tylko w odmianie korzeni Nochowski, natomiast w pozostałych dwóch badanych odmianach buraka Bonel i Chrobry izomer ten nie występuje. Z kolei izomer saponiny 16/19 (16 – Chrobry i Bonel t_R = 39,0; 19 – Nochowski t_R = 39,6) zidentyfikowano we wszystkich badanych odmianach buraka ćwikłowego. Podobnie pozostałe izomery tej saponiny występują we wszystkich badanych odmianach buraka, w różnych częściach tego surowca (tabela 8).

Wyodrębnione ekstrakty mieszanin saponin z różnych odmian charakteryzowały się podobnym, ale nie takim samym składem jakościowym analizowanych związków. Najwięcej saponin zidentyfikowano w odmianie Nochowski, a najmniej w odmianie Bonel, przy czym stwierdzono różną liczbę saponin nie tylko w zależności od odmiany buraka ćwikłowego, ale też od jego części. W ekstraktach saponin wyizolowanych z miąższu odmiany Nochowski (pochodzących zarówno z 2012, jak i z 2013 roku) było mniej saponin triterpenowych (37), niż w ekstraktach ze

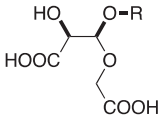
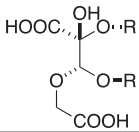
skór (39). Tak samo było w przypadku dwóch pozostałych odmian, mniej saponin zidentyfikowano w miąższu niż w skórze. W odmianie korzeni buraków Chrobry zidentyfikowano w skórze 35 saponin i 33 saponiny w miąższu, natomiast w odmianie buraków Bonel w skórze zidentyfikowano 34 saponiny, a w miąższu 24 saponiny.

W korzeniach buraka ćwikłowego zidentyfikowano obecność 19 saponin z nietypowymi podstawnikami: dioksolanowymi (3 saponiny) i acetalowymi (16 saponin). Badane odmiany różniły się zarówno jakością, jak i ilością występujących saponin zawierających w swojej strukturze nietypowe podstawniki. W odmianie buraka Nochowski pochodzącej ze zbioru z 2012 roku zidentyfikowano w skórze i w miąższu po 13 różnych saponin z nietypowymi podstawnikami, w tym w skórze i w miąższu występuje po 12 saponin z acetalowymi podstawnikami i po jednej saponinie z dioksolanowym podstawnikiem (tabela 9). Z kolei w tej samej odmianie Nochowski pochodzącej z sezonu wegetacyjnego 2013 roku zidentyfikowano w skórze i miąższu odpowiednio 15 i 14 saponin z nietypowymi podstawnikami, w tym po 13 saponin z acetylowym podstawnikiem w skórze i miąższu, dwie saponiny zawierające dioksolanowy podstawnik zidentyfikowano w skórze i jedną saponinę z tym podstawnikiem w miąższu. Odmiana buraka Chrobry zawierała w skórze i miąższu korzeni odpowiednio 11 i 10 saponin z nietypowymi podstawnikami: acetalowymi (po 9 w skórze i w miąższu) oraz dioksolanowymi (1 w skórze i 2 w miąższu). Odmiana buraka Bonel charakteryzowała się obecnością w skórze i miąższu odpowiednio 9 i 14 saponin z nietypowymi podstawnikami: acetalowymi – 7 w skórze i 11 w miąższu oraz dioksolanowymi – 2 i 3 odpowiednio w skórze i w miąższu (tabela 9).

Saponiny z nietypowymi podstawnikami nie zostały wcześniej zidentyfikowane w buraku ćwikłowym, ale zidentyfikowano je w liściach i korzeniach buraka cukrowego przez zespół Yoshikawa i współpracownicy (1996, 1998, 1999). Naukowcy ci nazwali zidentyfikowane saponiny betawulgarozydami I–X. W niniejszej pracy udało się zidentyfikować wszystkie betawulgarozydy I–X w odmianach buraka ćwikłowego Chrobry i Nochowski, ale w odmianie Bonel nie zidentyfikowano betawulgarozydu X o *m/z* 909,4 $[M\text{-}H]^-$, który jako jedyny spośród 10 betawulgarozydów nie zawiera nietypowego podstawnika acetalowego. Pozostałych dziewięć betawulgarozydów I – IX zostało zidentyfikowanych w tej odmianie. Spośród 10 betawulgarozydów zidentyfikowanych w korzeniach badanych odmian buraka ćwikłowego pięć betawulgarozydów występuje w formie izomerów. Są to betawulgarozyd II (trzy izomery), III (trzy izomery), IV (dwa izomery), V (pięć izomerów) i betawulgarozyd X (trzy izomery). Betawulgarozyd II, który został wcześniej zidnetyfikowany przez zespół Yoshikawa i współpracownicy (1999) w buraku cukrowym, zawiera w swojej strukturze nietypowy podstawnik dioksolanowy oraz kwas oleanolowy jako aglikon, tymczasem w buraku ćwikłowym w niniejszej pracy udało się zidentyfikować jego izomer również z podstawnikiem dioksolanowym i kwasem oleanolowym oraz kolejny jego izomer, w którym nie występuje

podstawnik dioksolanowy ani kwas oleanolowy, lecz kwas akebonowy. Izomery betawulgarozydów I–X nie zostały dotąd zidentyfikowane w buraku cukrowym. Występowanie poszczególnych betawulgarozydów w skórze lub miąższu badanych odmian buraka ćwikłowego przedstawiono w tabeli 10.

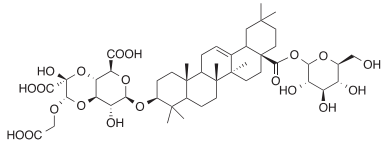
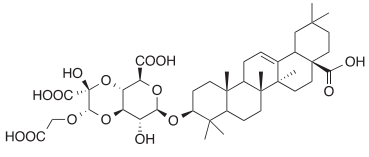
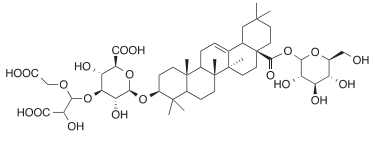
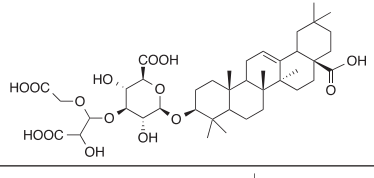
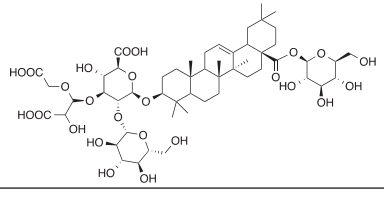
Tabela 9. Saponiny triterpenowe obecne w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego z podstawnikiem acetalowym lub dioksolanowym

Nr piku	*m/z* [M-H]⁻	Bonel 2013 r.		Chrobry 2013 r.		Nochowski 2013 r.		Nochowski 2012 r.	
		skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ
 **podstawnik acetalowy**									
6[a], 9[b]	1117	+	–	+	–	+	+	–	–
7[a], 10[b]	971	+	–	+	–	+	+	+	+
13[a], 16[b]	939	+	+	+	+	+	+	+	+
14	1117	–	–	–	–	+	+	–	–
16	1117	+	–	+	+	–	–	–	–
19[a], 21[b]	1087	+	+	+	+	+	+	+	+
21[a], 24[b]	1117	+	–	+	+	+	+	+	+
25	793	–	–	–	–	+	+	+	+
6	955	–	–	–	–	+	+	–	+
26[a], 30[b]	955	+	+	+	+	–	–	+	–
31	955	–	–	–	–	+	+	+	+
32[a], 38[b]	939	+	+	–	+	+	+	+	+
36	939	–	–	–	–	–	–	+	+
33[a], 39[b]	809	+	+	+	+	+	+	+	+
35[a], 40[b]	777	+	+	–	+	+	+	+	+
39[a], 43[b]	793	+	+	+	+	+	+	+	+
 **podstawnik dioksolanowy**									
25	953	+	+	+	+	+	+	+	+
37	791	+	–	–	–	–	–	–	–
40[a], 44[b]	791	+	+	–	+	–	+	–	–

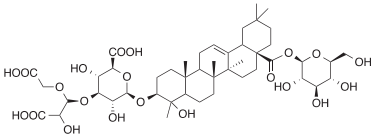
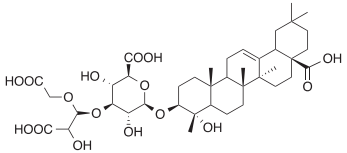
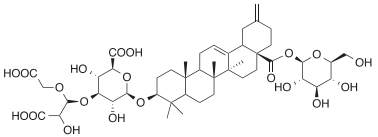
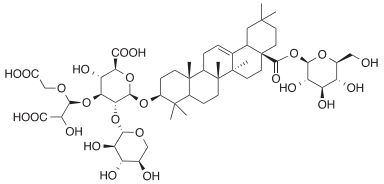
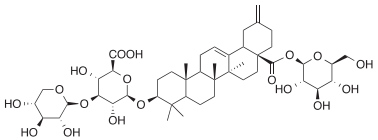
[a] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Bonel i Chrobry.
[b] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Nochowski.

Źródło: Badania własne.

Tabela 10. Saponiny zidentyfikowane w różnych częściach korzeni buraka ćwikłowego i odpowiadające im betawulgarozydy zidentyfikowane przez Yoshikawę i współpracowników (1996; 1998)

Struktura chemiczna betawulgarozydu	Nr piku	*m/z* $[M-H]^-$	Typ podstawnika	Chrobry		Bonel		Nochowski			
				skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ
				2013 r.						2012 r.	
I 	25[a], 29[b]	953,4	diox	+	+	+	+	+	+	+	+
II 	40[a], 44[b]	791,3	diox	–	+	+	+	–	+	–	–
III 	26[a], 30[c] lub 31[b]	955,4	act	+	+	+	+	+	+	+	+
IV 	39[a], 43[b]	793,4	act	+	+	+	+	+	+	+	+
V 	6[a], 9[b] lub 14[b] lub 19[b] lub 24[b]	1117,4	act	+	–	+	–	+	+	+	+

cd. tabeli 10

Struktura chemiczna betawulgarozydu	Nr piku	*m/z* [M-H]⁻	Typ podstawnika	Chrobry		Bonel		Nochowski			
				skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ
				2013 r.						2012 r.	
VI 	7[a], 10[b]	971,5	act	+	+	+	–	+	+	+	+
VII 	33[a], 39[b]	809,3	act	+	+	+	+	+	+	+	+
VIII 	13[a], 16[b]	939,4	act	+	+	+	+	+	+	+	+
IX 	19[a], 21[b]	1087,4	act	+	+	+	+	+	+	+	+
X 	5[a], 8[b] lub 11[b]	909,4	-	+	–	–	–	+	+	+	+

[a] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Bonel i Chrobry.
[b] Numer piku podano z rozdziałów HPLC/MS saponin z odmian Nochowski.
[c] Numer piku podano tylko z rozdziału HPLC/MS saponin z odmiany Nochowski (skóra 2012 r.).
act – podstawnik acetalowy; diox – podstawnik dioksolanowy.

Źródło: Badania własne.

Struktury chemiczne betawulgarozydów buraka ćwikłowego zawierające różną liczbę izomerów saponin występujących w korzeniach buraka ćwikłowego przedstawiono w tabeli 11.

Na podstawie zastosowania dwóch metod chromatograficznych do identyfikacji wyizolowanych mieszanin saponin z korzeni buraka ćwikłowego wykazano różny skład saponin w zależności od odmiany buraka i części badanej rośliny.

Tabela 11. Betawulgarozydy buraków ćwikłowych z różną liczbą izomerów saponin występujących w korzeniach buraka ćwikłowego

Betawulgarozyd	Liczba izomerów	*m/z* $[M-H]^-$	Wzór sumaryczny	Obecność izomerów w odmianach buraka ćwikłowego
Betawulgarozydy buraków ćwikłowych z obecnymi izomerami				
Betawulgarozyd II	3	791,3859	$C_{41}H_{59}O_{15}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd III	3	955,4544	$C_{47}H_{71}O_{20}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd V	5	1117,507	$C_{53}H_{81}O_{25}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd IV	2	793,4015	$C_{41}H_{61}O_{15}$	Nochowski
Betawulgarozyd X	3	909,4491	$C_{46}H_{69}O_{18}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozydy buraków ćwikłowych nieposiadające izomerów				
Betawulgarozyd I	–	953,4388	$C_{47}H_{69}O_{20}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd VI	–	971,4493	$C_{47}H_{71}O_{21}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd VII	–	809,3967	$C_{41}H_{61}O_{16}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd VIII	–	939,4232	$C_{46}H_{67}O_{20}$	Bonel, Chrobry, Nochowski
Betawulgarozyd IX	–	1087,4965	$C_{52}H_{79}O_{24}$	Bonel, Chrobry, Nochowski

Źródło: Badania własne.

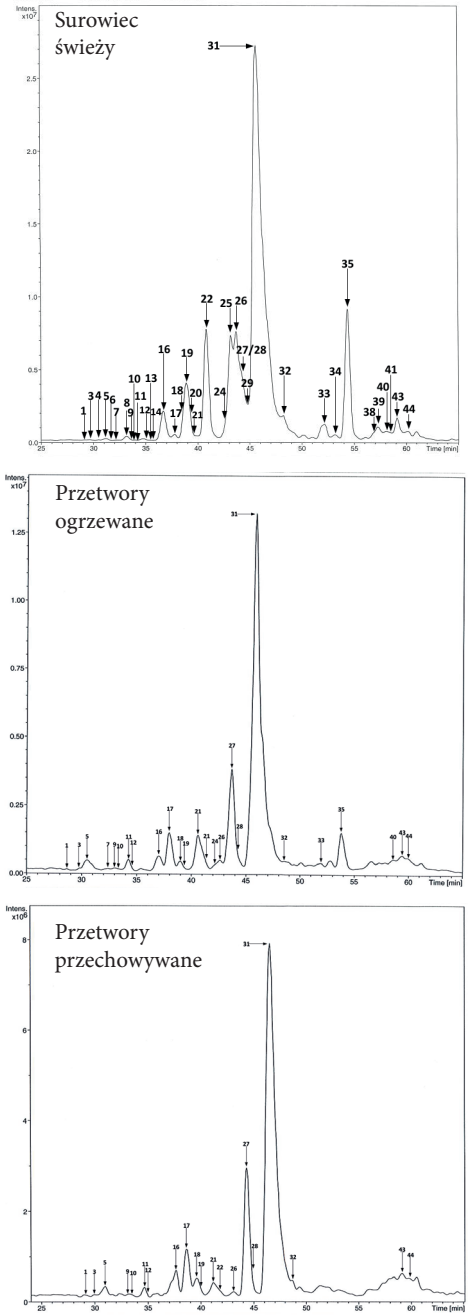
Z porównania składu jakościowego mieszanin saponin wyizolowanych ze skóry i miąższu odmiany korzeni Nochowski, pochodzących ze zbioru z dwóch następujących po sobie sezonów wegetacyjnych z lat 2012–2013 wynika, że odmiana ta wykazuje niewielkie różnice w składzie jakościowym saponin. W korzeniach pochodzących z obu sezonów wegetacyjnych zidentyfikowano saponiny zawierające cztery różne aglikony, w tym rzadki aglikon, jakim jest gipsogenina, został zidentyfikowany jedynie w strukturze saponin zidentyfikowanych w skórach badanych korzeni. Spośród 44 zidentyfikowanych saponin triterpenowych różnice w składzie jakościowym dotyczą tylko siedmiu saponin, tj. saponin o *m/z* 791,3859, 1117,5070 i 1117,5069 $[M-H]^-$, które nie występują w korzeniach buraków zebranych z pola w 2012 roku, oraz pięciu saponin o *m/z* 791,3861, 921,4117, 939,4600 i 955,4542 $[M-H]^-$, których nie zidentyfikowano w korzeniach zebranych w następnym sezonie wegetacyjnym (2013 r.). Pozostałych 36 saponin występowało w korzeniach buraków pochodzących z obu sezonów wegetacyjnych. W obu przypadkach w skórach zidentyfikowano łącznie 30 saponin, a w miąższach 37 saponin (tabela 6).

4.1.2. Wpływ ogrzewania i przechowywania na zmiany składu jakościowego saponin triterpenowych w przetworach z buraka

W czasie produkcji różnych produktów i przetworów z buraka ćwikłowego surowiec jest poddany różnym zabiegom technologicznym związanym z działaniem podwyższonej temperatury, takim jak blanszowanie buraków przy produkcji mrożonek, pasteryzowanie soków czy barszczu, ogrzewanie surowca. W czasie tych procesów termicznych, jak również w czasie przechowywania gotowych produktów z buraka ćwikłowego, skład jakościowy metabolitów wtórnych może ulec zmianie. Określenie składu jakościowego saponin triterpenowych w ogrzewanych w temp. 100°C przez 30 minut oraz ogrzewanych i przechowywanych przetworach z korzeni buraka ćwikłowego różnych odmian i ich części zostało opracowane na podstawie izolacji mieszaniny saponin triterpenowych z surowca i jego przetworów, a następnie zidentyfikowania saponin dwiema metodami chromatograficznymi LR i HR HPLC-MS/MS. Przetwory otrzymano w skali laboratoryjnej ze świeżych buraków ćwikłowych trzech odmian Bonel, Chrobry i Nochowski, osobno ze skór i z miąższu. Metodyka przygotowania przetworów z buraków ćwikłowych została przedstawiona w publikacji Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski (2016). Przetwory stanowiły starte na wiórki poszczególne części buraków ćwikłowych różnych odmian, umieszczone w słoikach szklanych o poj. 0,9 l i ogrzewane w temperaturze 100°C przez 30 minut, a następnie schłodzone. Część z tak przygotowanych przetworów z buraka ćwikłowego została poddana dalszym analizom (analiza sensoryczna przetworów, izolacja saponin i analiza składu jakościowego saponin, oznaczanie ilościowej zawartości saponin, analiza sensoryczna wyizolowanych mieszanin saponin w celu wyznaczenia progów rozpoznania smaku gorzkiego oraz oznaczenie aktywności antyoksydacyjnej wyizolowanych mieszanin saponin), a część przechowywano w temperaturze 4°C przez pół roku, a po tym czasie poddano analizom, jak opisano wyżej.

Z przeprowadzonej identyfikacji mieszanin saponin z buraków ogrzewanych i przechowywanych wynika, że saponina o *m/z* 955,4542 (betawulgarozyd III), stanowiąca zwykle ponad 70% pola powierzchni na chromatogramach mieszanin saponin wyizolowanych ze wszystkich analizowanych odmian buraków, jest związkiem stabilnym. Saponina ta, zwana betawulgarozydem III (Yoshikawa i in. 1996), została zidentyfikowana we wszystkich próbach po ogrzewaniu i półrocznym przechowywaniu. Przykładowe chromatogramy HPLC ekstraktów saponin wyizolowanych ze świeżych korzeni buraka ćwikłowego odmiany Nochowski (miąższ, 2013 r.) oraz z ich przetworów (ogrzewanych tartych buraków i przechowywanych tartych buraków) przedstawiono na rysunku 16.

Z analizy składu jakościowego mieszanin saponin z buraków po ogrzewaniu wynika, że spośród 34 saponin obecnych w skórze buraków odmiany Bonel 11 było niestabilnych (uległy degradacji po ogrzewaniu), natomiast w miąższu spośród



[1–44] Liczbami oznaczono numery pików zidentyfikowanych saponin (opis w tabeli 6)

Rysunek 16. Chromatogramy HPLC-ESI/MS ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych ze świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz z ich przetworów (ogrzewanych i przechowywanych), na przykładzie odmiany Nochowski

Źródło: Badania własne.

24 saponin osiem było niestabilnych; w odmianie Chrobry w skórze spośród 35 saponin 12 było niestabilnych, a w miąższu spośród 33 saponin 11 uległo degradacji; z kolei w odmianie Nochowski w skórze spośród 39 saponin aż 19 uległo degradacji po ogrzewaniu, natomiast w miąższu spośród 37 saponin 12 uległo degradacji po ogrzewaniu. Przedstawiając w procentach powyższe dane, stwierdzono, że w czasie ogrzewania nastąpiły straty saponin triterpenowych od 32 do 49% w korzeniach buraka ćwikłowego różnych odmian, natomiast większość saponin buraka ćwikłowego, tj. 66–68%, jest odporna na proces ogrzewania w temp. 100°C przez 30 minut. Warunki, jakie zastosowano w czasie ogrzewania produktów buraka ćwikłowego, są częścią procesu technologicznego przy produkcji gotowych buraków, tartych, buraków w całości czy innych produktów z udziałem buraków znajdujących się w handlu, często w opakowaniach szklanych. Procesom termicznym, w tym pasteryzacji, są również poddawane takie produkty jak barszcz z buraków ćwikłowych czy soki buraczane.

Poddane obróbce termicznej produkty handlowe z buraków ćwikłowych są spożywane po przechowywaniu, w czasie którego saponiny jako związki naturalne korzeni buraka ćwikłowego mogą ulec przemianie. W pracy oceniano zmiany składu jakościowego i ilościowej zawartości saponin triterpenowych w przechowywanych produktach z buraka ćwikłowego. Ocenianymi produktami były otrzymane w skali laboratoryjnej buraki ćwikłowe w postaci wiórków, ogrzewane (w temp. 100°C/30 min), schłodzone po ogrzewaniu i następnie przechowywane w temp. 4°C przez pół roku.

Po półrocznym przechowywaniu w temp. 4°C uprzednio ogrzewanych produktów z buraka ćwikłowego 15 spośród 34 zidentyfikowanych saponin w skórze odmiany Bonel było niestabilnych, a w miąższu 13 saponin uległo degradacji (spośród 24 obecnych saponin przed przechowywaniem); w skórze odmiany Chrobry spośród 35 obecnych saponin 15 uległo degradacji po przechowywaniu, a w miąższu tej odmiany spośród 33 saponin 12 było niestabilnych w czasie przechowywania; z kolei w skórze odmiany Nochowski spośród 39 obecnych saponin 21 uległo degradacji po przechowywaniu, a w miąższu spośród 37 saponin 17 było niestabilnych po przechowywaniu. Zmiany ilościowej zawartości saponin opisano w rozdziale 4 pkt 4.2 i 4.3. Liczba zidentyfikowanych saponin stabilnych i niestabilnych w czasie ogrzewania i przechowywania przetworów z buraka ćwikłowego została przedstawiona w tabeli 12.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że spośród 49 zidentyfikowanych saponin w korzeniach trzech odmian buraka ćwikłowego 10 saponin nie uległo degradacji zarówno w czasie ogrzewania, jak i przechowywania uprzednio ogrzewanych produktów. Stwierdzono, że najbardziej stabilnymi saponinami zidentyfikowanymi w przetworach z buraka ćwikłowego ogrzewanych i przechowywanych są: saponina 3/5 (*m/z* 809,4329 $[M-H]^-$, $C_{42}H_{65}O_{15}$), saponina 9/12 (*m/z* 777,4066 $[M-H]^-$, $C_{41}H_{61}O_{14}$), saponina 13/16 (*m/z* 939,4232

Tabela 12. Liczba saponin triterpenowych zidentyfikowanych w przetworach buraka ćwikłowego

Odmiana buraka ćwikłowego	Część buraka ćwikłowego	Liczba saponin stabilnych		Liczba saponin niestabilnych	
		przetwory ogrzewane[a]	przetwory przechowywane[b]	przetwory ogrzewane	przetwory przechowywane
Bonel	miąższ	11	11	8	13
	skóra	23	19	11	15
Chrobry	miąższ	22	17	11	16
	skóra	23	20	12	15
Nochowksi	miąższ	25	20	12	17
	skóra	20	18	19	21

[a] Warunki ogrzewania: temp. 100°C/30 min.
[b] Warunki przechowywania: 4°C/6 miesięcy. Przed przechowywaniem, produkty z buraka ćwikłowego ogrzewano w temp. 100°C/30 min.

Źródło: Badania własne.

$[M-H]^-$, $C_{46}H_{67}O_{20}$), saponina 14/17 (*m/z* 955,4909 $[M-H]^-$, $C_{48}H_{75}O_{19}$), saponina 15/18 (*m/z* 1087,5331 $[M-H]^-$, $C_{53}H_{83}O_{23}$), saponina 16/19 (*m/z* 1117,5071 $[M-H]^-$, – $C_{53}H_{81}O_{25}$), saponina 20/22 (*m/z* 925,4807 $[M-H]^-$, $C_{47}H_{73}O_{18}$), saponina 24/28 (*m/z* 793,4377 $[M-H]^-$, $C_{42}H_{65}O_{14}$), saponina 26/31 (*m/z* 955,4544 $[M-H]^-$, $C_{47}H_{71}O_{20}$) i saponina 27/32 (*m/z* 925,4440 $[M-H]^-$, $C_{46}H_{69}O_{19}$) (tabela 13). Spośród wymienionych saponin dominującym sygnałem obserwowanym na wszystkich chromatogramach wyizolowanych saponin z różnych odmian i części korzeni buraka ćwikłowego, otrzymanych z przetworów ogrzewanych i przechowywanych, był pik o *m/z* 955,4544 $[M-H]^-$, $C_{47}H_{71}O_{20}$, stanowiący saponinę 26/31 (26 – Bonel, Chrobry t_R = 45,9; 31 – Nochowski t_R = 43,3) (tabela 13) zidentyfikowaną wcześniej w buraku cukrowym przez zespół naukowców z Japonii (Yoshikawa i in. 1996) i nazwaną betawulgarozydem III. Aglikonem tej saponiny jest kwas oleanolowy. Obok betawulgarozydu III, wśród saponin wymienionych jako stabilne występuje drugi betawulgarozyd VIII, tj. saponina 13/16 (*m/z* 939,4232 $[M-H]^-$, $C_{46}H_{67}O_{20}$) z kwasem akebonowym jako aglikonem. Kwas oleanolowy występuje w większości (w 63%) zidentyfikowanych saponin w analizowanych odmianach buraka ćwikłowego, zaraz za nim w największej ilości obecne są saponiny z kwasem akebonowym, stanowiące 20% wszystkich zidentyfikowanych saponin, następnie saponiny z hederageniną (15%), natomiast saponiny z gipsogeniną występują najrzadziej i stanowią tylko 1% zidentyfikowanych saponin w analizowanych burakach ćwikłowych.

Spośród stabilnych saponin tylko saponina 9/12 (9 – Bonel, Chrobry t_R = 34,5; 12 – Nochowski t_R = 34,9) i saponina 13/16 (13 – Bonel, Chrobry t_R = 36,6; 16 – Nochowski t_R = 37,0) posiadają kwas akebonowy jako aglikon, pozostałe saponiny zawierają kwas oleanolowy.

Tabela 13. Porównanie składu jakościowego saponin triterpenowych w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. w świeżym surowcu i w przetworach ogrzewanych (100°C/30min) oraz przechowywanych (6 miesięcy/4°C), zidentyfikowane za pomocą analiz HPLC-ESI-MS/MS

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	Struktura chemiczna saponiny	$[M-H]^-$ m/z[b]	Wzór sumaryczny (δ ppm)[c]	Nochowski						Chrobry						Bonel					
					surowiec świeży		przetwory				surowiec świeży		przetwory				surowiec świeży		przetwory			
							ogrz.		przech.				ogrz.		przech.				ogrz.		przech.	
					s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m
1	29,1	Hex-Hex-UrA-kwas akebonowy	939,4603	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,384)	+	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	+	–	+	–	+	–
2	29,5	Hex-Hex-UrA-hederagenina	971,4876	$C_{48}H_{75}O_{20}$ (2,470)	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2[d], 3[e]	29,9	Hex-Hex-Pen-UrA--kwas akebonowy	1071,5029	$C_{52}H_{79}O_{23}$ (1,587)	+	+	–	+	–	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	–
4[e]	30,5	Hex-Hex-UrA-kwas akebonowy	939,4601	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,171)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3[d], 5[e]	31,2	Hex-UrA-hederagenina	809,4329	$C_{42}H_{65}O_{15}$ (0,618)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	–
6[e]	31,6	Act-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4536	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (–0,314)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4[d], 7[e]	32,0	Hex-Pen-UrA-hederagenina	941,4752	$C_{47}H_{73}O_{19}$ (0,637)	+	+	–	+	–	–	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	–
5[d], 8[e]	32,4	Hex-Pen-UrA-kwas akebonowy	909,4491	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (0,770)	+	+	–	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6[d], 9[e]	33,0	Act-Hex-Hex-UrA--kwas oleanolowy	1117,5070	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,268)	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	+	–	+	–	+	–
7[d], 10[e]	33,3	Act-Hex-UrA-hederagenina	971,4493	$C_{47}H_{71}O_{21}$ (0,515)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+	–	–	–
8[d], 11[e]	34,1	Hex-Pen-UrA-kwas akebonowy	909,4495	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (1,210)	+	+	–	+	–	+	+	+	–	–	–	+	+	+	+	–	–	–

9[d], 12[e]	34,9	Hex-UrA-kwas akebonowy	777,4066	$C_{41}H_{61}O_{14}$ (0,643)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	–
10[d], 13[e]	35,4	Hex-Hex-Pen-UrA--kwas oleanolowy	1087,5339	$C_{53}H_{83}O_{23}$ (1,287)	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–
14[e]	35,6	Act-Hex-Hex-UrA--kwas oleanolowy	1117,5069	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,179)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11[d]	34,9	Hex-Pen-UrA-kwas akebonowy	909,4497	$C_{46}H_{69}O_{18}$ (1,452)	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–
12[d], 15[e]	36,7	Hex-UrA-gipsogenina	807,4176	$C_{42}H_{63}O_{15}$ (1,115)	+	–	–	–	–	–	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–
13[d], 16[e]	37,0	Act-Hex-UrA-kwas akebonowy	939,4232	$C_{46}H_{67}O_{20}$ (0,639)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14[d], 17[e]	38,3	Hex-Hex-UrA-kwas oleanolowy	955,4909	$C_{48}H_{75}O_{19}$ (0,628)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15[d], 18[e]	39,1	Hex-Pen-Hex-UrA--kwas oleanolowy	1087,5331	$C_{53}H_{83}O_{23}$ (0,552)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16[d], 19[e]	39,6	Act-Hex-Hex-UrA--kwas oleanolowy	1117,5071	$C_{53}H_{81}O_{25}$ (0,358)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	–
17[d], 20[e]	39,9	Hex-Hex-UrA-kwas oleanolowy	955,4913	$C_{48}H_{75}O_{19}$ (1,047)	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
18[d]	40,8	Hex-Pen-Pen-UrA--kwas oleanolowy	1057,5233	$C_{52}H_{81}O_{22}$ (1,297)	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
19[d], 21[e]	41,1	Act-Hex-Pen-UrA--kwas oleanolowy	1087,4965	$C_{52}H_{79}O_{24}$ (0,368)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+
20[d], 22[e]	41,5	Hex-Pen-UrA-oleanolic acid	925,4807	$C_{47}H_{73}O_{18}$ (1,081)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+
23[f]	42,1	$C_5H_4O_5$-Hex-UrA – kwas akebonowy	921,4117	$C_{46}H_{65}O_{19}$ (–0,326)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

cd. tabeli 13

Nr piku	t_R [min][a] HPLC	Struktura chemiczna saponiny	$[M-H]^-$ m/z[b]	Wzór sumaryczny (δ ppm)[c]	Nochowski						Chrobry						Bonel					
					surowiec świeży		przetwory				surowiec świeży		przetwory				surowiec świeży		przetwory			
							ogrz.		przech.				ogrz.		przech.				ogrz.		przech.	
					s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m	s	m
25[e]	43,3	Act-UrA-kwas oleanolowy	793,4018	$C_{41}H_{61}O_{15}$ (1,008)	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
22[d], 26[e]	43,3	Hex-dHex-UrA-kwas oleanolowy	939,4962	$C_{48}H_{75}O_{18}$ (0,958)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+
23[d], 27[e]	43,5	Hex-Pen-UrA-kwas oleanolowy	925,4805	$C_{47}H_{73}O_{18}$ (0,864)	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+
24[d], 28[e]	44,4	Hex-UrA-kwas oleanolowy	793,4377	$C_{42}H_{65}O_{14}$ (0,378)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25b[d], 29[e]	45,0	Diox-Hex-UrA-kwas oleanolowy	953,4388	$C_{47}H_{69}O_{20}$ (0,629)	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	+	–	–
30[f]	45,7	Act-Hex-UrA – kwas oleanolowy	955,4542	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (0,314)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26[d], 31[e]	46,4	Act-Hex-UrA-oleanolic acid	955,4544	$C_{47}H_{71}O_{20}$ (0,523)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27[d], 32[e]	48,5	$C_4H_4O_5$-Hex-UrA--kwas oleanolowy	925,4440	$C_{46}H_{69}O_{19}$ (0,523)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28[d], 33[e]	52,5	$C_5H_4O_5$-Hex-UrA--kwas oleanolowy	937,4443	$C_{47}H_{69}O_{19}$ (1,067)	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
29[d], 34[e]	53,9	UrA-Hex-UrA-kwas oleanolowy	969,4697	$C_{48}H_{73}O_{20}$ (0,206)	+	+	–	–	+	–	+	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–
30[d], 35[e]	55,0	UrA-Hex-UrA-kwas oleanolowy	969,4699	$C_{48}H_{73}O_{20}$ (0,413)	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31[d], 37[e]	57,2	Pen-UrA-hederagenina	779,4221	$C_{41}H_{63}O_{14}$ (0,385)	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–

32[d], 38[e]	57,3	Act-dHex-UrA-kwas oleanolowy	939,4601	$C_{47}H_{71}O_{19}$ (1,171)	+	+	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–
33[d], 39[e]	57,7	Act-UrA-hederagenina	809,3967	$C_{41}H_{61}O_{16}$ (0,865)	+	+	+	–	+	–	+	+	+	–	+	–	+	+	+	–	–	–
34[d]	57,9	UrA-UrA-hederagenina	823,4120	$C_{42}H_{63}O_{16}$ (0,534)	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35[d], 40[e]	58,1	Act-UrA-kwas akebonowy	777,3702	$C_{40}H_{57}O_{15}$ (0,515)	+	+	+	+	–	–	–	+	–	+	–	–	+	+	–	–	–	–
36[d], 41[e]	58,3	Pen-UrA-kwas oleanolowy	763,4269	$C_{41}H_{63}O_{13}$ (0,253)	+	+	–	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–
42[f]	58,6	UraA-UrA – kwas akebonowy	791,3861	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,885)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
37[d]	58,5	Diox-UrA-kwas oleanolowy	791,3860	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,745)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–
38[d]	58,8	UrA-kwas oleanolowy	631,3846	$C_{36}H_{55}O_{9}$ (0,032)	–	–	–	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
39[d], 43[e]	59,0	Act-UrA-kwas oleanolowy	793,4015	$C_{41}H_{61}O_{15}$ (0,504)	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	–	+	+	+	–	+	–	+
40[d], 44[e]	59,7	Diox-UrA-kwas oleanolowy	791,3860	$C_{41}H_{59}O_{15}$ (0,954)	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	–	+	+	+	+	–	–

s – skóra; m – miąższ.
Hex – heksoza, dHex – deoksyheksoza, Pen – pentoza, UrA – kwas uronowy, Act – podstawnik acetalowy, Diox – podstawnik dioksolanowy.
[a] Czas retencji poszczególnych pików.
[b] Jony o określonym stosunku masy do ładunku (*m/z*) poszczególnych saponin obserwowanych na widmie masowym w trybie jonów ujemnych $[M-H]^-$.
[c] (δ ppm) Różnica teoretycznej i zmierzonej masy jonu pseudomolekularnego podzielona przez teoretyczną masę jonu pseudomolekularnego.
[d] Numer piku i (lub) czas retencji podano z rozdziałów HPLC/MS dla saponin z odmian Bonel i Chrobry.
[e] Numer piku i czas retencji podano z rozdziałów HPLC/MS dla saponin z odmiany Nochowski z 2013 r.
[f] Numer piku i czas retencji podano z rozdziałów HPLC/MS dla saponin z odmiany Nochowski z 2012 r.
+ Oznacza zidentyfikowaną saponinę w badanej próbie.
– Oznacza brak saponiny w badanej próbie.

Źródło: Badania własne.

Spośród zidentyfikowanych saponin we wszystkich analizowanych odmianach korzeni buraka ćwikłowego za najmniej stabilne saponiny, które w czasie procesu ogrzewania uległy degradacji i nie zidentyfikowano ich również po półrocznym przechowywaniu przetworów z buraków ćwikłowych, uznaje się dziewięć saponin. Są to saponiny z numerami pików: saponina 6 (*m/z* 955,4536 $[M-H]^-$, $C_{47}H_{71}O_{20}$), saponina 10/13 (*m/z* 1087,5339 $[M-H]^-$, $C_{53}H_{83}O_{23}$), saponina 14 (*m/z* 1117,5067 $[M-H]^-$, $C_{53}H_{81}O_{25}$), saponina 17/20 (*m/z* 955,4913 $[M-H]^-$, $C_{48}H_{75}O_{19}$), saponina 25 (*m/z* 793,4018 $[M-H]^-$, $C_{41}H_{61}O_{15}$), saponina 31/37 (*m/z* 779,4221 $[M-H]^-$, $C_{41}H_{63}O_{14}$), saponina 32/38 (*m/z* 939,4601 $[M-H]^-$, $C_{47}H_{71}O_{19}$), saponina 34 (*m/z* 823,4120 $[M-H]^-$, $C_{42}H_{63}O_{16}$) oraz saponina 40/44 (*m/z* 791,3860 [M-H], $C_{41}H_{59}O_{15}$). Żadna z tych saponin nie została zidentyfikowana w burakach cukrowych przez zespół naukowców Yoshikawa i in. (1996), a więc nie ma wśród niestabilnych saponin buraka ćwikłowego betawulgarozydów I–X. Spośród niestabilnych saponin dwie saponiny tj. saponina 31/37 (*m/z* 779,4221 $[M-H]^-$, $C_{41}H_{63}O_{14}$) i saponina 34 (*m/z* 823,4120 $[M-H]^-$, $C_{42}H_{63}O_{16}$) zawierają hederageninę jako aglikon, a pozostałe zawierają kwas olenaolowy (tabela 13). Szczegółową charakterystykę zidentyfikowanych saponin w ogrzewanych i przechowywanych przetworach z buraka ćwikłowego przedstawiono w tabeli 13.

Na podstawie analizy widm fragmentacyjnych (MS^n) oraz widm uzyskanych z rozdziału mieszanin saponin w ultrasprawnym chromatografie cieczowym Acquity (Waters, Milford, USA) połączonym z wysokorozdzielczym spektrometrem mas z detektorem typu Orbitrap stwierdzono, że większość obecnych saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego jest trwała w czasie ogrzewania i przechowywania.

4.2. Oznaczenia ilościowej zawartości saponin triterpenowych w świeżych odmianach buraka ćwikłowego

W przeprowadzonych badaniach przyjęto hipotezę, że występujące saponiny triterpenowe wpływają na intensywność odczuwania smaku gorzkiego korzeni buraka ćwikłowego. Różny poziom zawartości saponin w odmianach buraka ćwikłowego wpływa na smak finalnego produktu z buraka ćwikłowego. W celu weryfikacji tej hipotezy określono poziom zawartości saponin triterpenowych w sześciu różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego, osobno w skórze i miąższu, jednocześnie przeprowadzono oceny sensoryczne badanych odmian buraków, a w rozdziale 5 opisano wyznaczone progi rozpoznania smaku gorzkiego wyizolowanych mieszanin saponin z różnych odmian buraka ćwikłowego. Oceny sensoryczne surowca i jego produktów zostały opisane w rozdziale 3 pkt 3.2–3.5.

Całkowitą zawartość saponin określono w sokach, miąższach, skórach i wytłokach w odmianach buraków Bonel, Chrobry, Nochowski, Modana, Forono, Tytus, osobno dla skór i miąższów. Na podstawie analizy statystycznej (dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA, $\alpha = 0{,}05$) stwierdzono istotne różnice w zawartości saponin w sokach, miąższach, skórach i wytłokach w analizowanych odmianach buraków. We wszystkich odmianach buraka największą zwartość saponin stwierdzono w skórach (684,5–2107,2 μg/g s.m., w zależności od odmiany), następnie w miąższach (131,4–1524,9 μg/g s.m.), wytłokach (302,8–990,1 μg/g s.m.) i sokach (186,2–818,8 μg/g s.m.) (tabela 14). Najmniej saponin zawiera odmiana Bonel (1304,9 μg/g s.m.), zaklasyfikowana w ocenach sensorycznych jako odmiana praktycznie o niewyczuwalnym smaku gorzkim, a najwięcej – odmiana Chrobry (5297,6 μg/g s.m.), zaklasyfikowana w ocenach sensorycznych jako najbardziej gorzka (tabela 14). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że poziom zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego zależy od analizowanej odmiany buraka ćwikłowego i jego części. Spośród sześciu analizowanych odmian buraka w sokach trzech odmian korzeni buraka, tj. Bonel, Forono i Modana, stwierdzono wyższą zawartość saponin triterpenwych, o odpowiednio 29, 61 i 64%, niż w miąższach. Soki z buraków ćwikłowych stanowią dość duży asortyment produktów otrzymywanych z tego surowca. Oprócz świeżych (jednodniowych) i pasteryzowanych soków w przemyśle spożywczym z soku z buraków produkuje się koncentrat soku buraczanego. Z punktu widzenia oceny towaroznawczej sok buraczany oraz miąższ są najistotniejszymi produktami lub częściami korzeni buraka ćwikłowego, z których otrzymuje się większość dostępnych na rynku produktów z tego buraka. Niewątpliwie najbardziej przydatną częścią korzeni buraka dla przemysłu spożywczego jest miąższ, z którego są produkowane gotowe produkty handlowe, takie jak buraki całe w słoikach, buraki tarte (ćwikła z chrzanem). W kolejnych trzech analizowanych odmianach buraka, tj. Chrobry, Nochowski i Tytus, stwierdzono większą zawartość saponin triterpenowych w miąższach niż w sokach. Jak omówiono w dalszej części niniejszej pracy, saponiny wykazują aktywność antyoksydacyjną, zatem duża zawartość saponin w miąższu niektórych odmian przyczyni się do wzrostu aktywności antyoksydacyjnej w gotowych produktów spożywczych z buraków ćwikłowych. Przykładowo, miąższ korzeni buraka odmiany Chrobry zawiera o 46% więcej saponin niż sok z tej odmiany, a miąższ korzeni odmiany Nochowski zawiera o 30% więcej saponin niż sok otrzymany z tej odmiany. Jedynie miąższ odmiany buraka Tytus zawiera niewiele więcej saponin (o 2%) niż sok. Stwierdzono, że najwięcej saponin jest w skórach, prawdopodobnie wynika to z tego, że rośliny zwykle gromadzą w tej części najwięcej gorzkich metabolitów wtórnych, chroniąc się przed szkodnikami. Z uwagi na działanie antyoksydacyjne saponin triterpenowych ta część roślin stanowi potencjał w przemyśle farmaceutycznym, jeśli jej forma liofilizowana byłaby dodatkiem w suplementach diety. Podobnie jest z wytłokami, które są produktem odpadowym w przemyśle

spożywczym po produkcji soków i koncentratów soków, a zwierają zwykle więcej saponin niż sok. Ponadto zarówno wytłoki z buraka ćwikłowego, jak i skóry stanowiące obecnie produkt odpadowy w przemyśle spożywczym mogą stanowić wartościowy dodatek do pasz dla zwierząt.

Tabela 14. Całkowita zawartość saponin triterpenowych w różnych odmianach i częściach korzeni buraka ćwikłowego oraz w sokach

Odmiana buraka ćwikłowego	Miąższ [μg/g s.m.]	Skóra [μg/g s.m.]	Wytłoki [μg/g s.m.]	Sok [μg/g s.m.]	Suma
Bonel	131,4 ^{a,A} ±24,0	684,5 ^{a,D} ±70,6	302,8 ^{a,C} ±25,0	186,2 ^{a,B} ±51,5	1304,9
Chrobry	1524,9 ^{f,C} ±86,4	1963,7 ^{e,D} ±358,1	990,1 ^{f,B} ±61,3	818,8 ^{f,A} ±167,8	5297,5
Forono	171,2 ^{b,A} ±16,3	1432,2 ^{c,D} ±33,2	455,2 ^{b,C} ±77,5	435,2 ^{b,B} ±41,3	2493,8
Modana	279,8 ^{c,A} ±18,0	1705,5 ^{d,D} ±48,2	586,5 ^{c,B} ±39,7	767,0 ^{e,C} ±5,8	3338,8
Nochowski	1116,8 ^{e,C} ±145,1	1359,0 ^{b,D} ±191,7	834,1 ^{e,B} ±68,9	677,4 ^{d,A} ±201,6	3987,3
Tytus	607,8 ^{d,B} ±25,2	2107,2 ^{f,D} ±126,3	681,4 ^{d,C} ±33,8	597,2 ^{c,A} ±206,3	3993,6

a–f Całkowita zawartość saponin triterpenowych różni się istotnie między odmianami (istotne różnice między średnimi w kolumnach) ($p < 0,05$).

A, B, C, D Całkowita zawartość saponin triterpenowych różni się istotnie w miąższu, skórze, soku i wytłokach w obrębie danej odmiany buraka ćwikłowego (istotne różnice między średnimi w wierszach) ($p < 0,05$).

± Odchylenie standardowe.

Źródło: Badania własne.

4.3. Oznaczanie ilościowej zawartości saponin triterpenowych po obróbce termicznej surowca i po przechowywaniu przetworów

Określono wpływ ogrzewania (100°C/30 min) i przechowywania (4°C/6 miesięcy) na zmiany całkowitej zawartości saponin w przetworach z buraka ćwikłowego. Przetwory otrzymano w skali laboratoryjnej, osobno ze skór i z miąższów trzech odmian korzeni buraka: Bonel, Chrobry i Nochowski.

Na podstawie analizy statystycznej (dwuczynnikowa analiza wariancji ANOVA, $\alpha = 0,05$) stwierdzono, że zawartość saponin triterpenowych różniła się istotnie między odmianami świeżych korzeni buraka ćwikłowego (Bonel, Chrobry i Nochowski) oraz w skórach i miąższach badanych odmian. W skórze buraków było o 81, 22 i 18% więcej saponin niż w miąższu odpowiednio dla odmian korzeni buraka ćwikłowego Bonel, Chrobry i Nochowski. Najwyższą zawartością saponin triterpenowych charakteryzuje się odmiana Chrobry (1524,9 μg/g s.m. w miąższu, 1963,7 μg/g s.m. w skórze), a najniższą odmiana Bonel (131,4 μg/g s.m. w miąższu,

684,5 μg/g s.m. w skórze). Z doświadczenia wynika, że miąższ i skóra korzeni buraka odmiany Chrobry zawierają odpowiednio 11,6 i 2,8 razy więcej saponin triterpenowych niż miąższ i skóra odmiany Bonel.

Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono, że zarówno proces ogrzewania, jak i półroczne przechowywanie wpływały istotnie na zmniejszenie zawartości saponin w skórach i w miąższach badanych odmian korzeni buraka. Ponadto stwierdzono istotne różnice całkowitej zawartości saponin w zależności od odmiany korzeni buraka ćwikłowego, jak i części. Straty ilościowej zawartości saponin po ogrzewaniu wynosiły w miąższach 30, 28 i 29% i w skórach 66, 27 i 68% odpowiednio dla odmian Bonel, Chrobry i Nochowski, natomiast po przechowywaniu straty zawartości saponin były jeszcze większe i wynosiły w miąższach 58, 63 i 74% i w skórach 71, 65 i 70% w porównaniu do świeżych buraków (tabela 15).

Tabela 15. Całkowita zawartość saponin triterpenowych w różnych odmianach świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz w jego przetworach

Odmiana buraka ćwikłowego	Całkowita zawartość saponin triterpenowych w [μg/g s.m.]			Straty zawartości saponin po ogrzewaniu [%]	Straty zawartości saponin po przechowywaniu [%]
	świeżym surowcu	przetworach ogrzewanych	przetworach przechowywanych		
Miąższ					
Bonel	$131{,}4^{a, C} \pm 24{,}0$	$91{,}4^{a, B} \pm 9{,}5$	$55{,}0^{a, A} \pm 21{,}1$	30	58
Chrobry	$1524{,}9^{e, C} \pm 86{,}4$	$1091{,}6^{e, B} \pm 183{,}6$	$560{,}6^{e, A} \pm 32{,}7$	28	63
Nochowski	$1116{,}8^{c, C} \pm 145{,}1$	$795{,}0^{d, B} \pm 27{,}1$	$288{,}6^{c, A} \pm 160{,}6$	29	74
Skóra					
Bonel	$684{,}5^{b, C} \pm 70{,}6$	$231{,}6^{b, B} \pm 35{,}6$	$198{,}8^{b, A} \pm 38{,}8$	63	71
Chrobry	$1963{,}7^{f, C} \pm 358{,}1$	$1440{,}9^{f, B} \pm 76{,}3$	$695{,}1^{f, A} \pm 245{,}7$	27	65
Nochowski	$1359{,}0^{d, C} \pm 191{,}7$	$440{,}0^{c, B} \pm 59{,}0$	$403{,}6^{d, A} \pm 275{,}6$	68	70

a–f Średnie wartości całkowitej zawartości saponin różnią się istotnie statystycznie w obrębie świeżego surowca oraz przetworów ogrzewanych i przechowywanych (istotne różnice między średnimi w kolumnach) ($p < 0{,}05$).

A, B, C Średnie wartości całkowitej zawartości saponin różnią się istotnie statystycznie w burakach świeżych oraz w przetworach ogrzewanych i przechowywanych w obrębie danej odmiany (istotne różnice między średnimi w wierszach) ($p < 0{,}05$).

± Odchylenie standardowe.

Źródło: Badania własne.

Średnie straty zawartości saponin w ogrzewanych przetworach buraka otrzymanych z miąższu badanych odmian wynoszą 29%, a w przetworach po przechowywaniu 65%. Zatem po przechowywaniu przetworów z buraka straty całkowitej zawartości saponin są ponad dwukrotnie większe niż po ogrzewaniu. Średnie straty zawartości saponin po ogrzewaniu przetworów z buraka otrzymanych ze skór

analizowanych odmian wynoszą 53%, a po przechowywaniu 69%. Z doświadczenia wynika, że przechowywanie przetworów z buraka otrzymanych ze skór powoduje większe straty zawartości saponin niż ogrzewanie. Częściowe straty zawartości saponin triterpenowych w przetworach przechowywanych tłumaczą niższe odczucie intensywności smaku i posmaku gorzkiego w tych przetworach. Wyniki analizy sensorycznej przetworów ogrzewanych z buraka ćwikłowego i przechowywanych zostały szerzej opisane w rozdziale 3 pkt 3.5.

Na podstawie analizy pola powierzchni pików poszczególnych saponin obecnych na chromatogramie HPLC-MS stwierdzono, że saponina 26/31 (26 – Bonel, Chrobry; 31 – Nochowski) o wzorze sumarycznym $C_{47}H_{71}O_{20}$ (betawulgarozyd III) jest dominującym związkiem, a jego pik *m/z* 955,4542 $[M\text{-}H]^-$ jest obecny na każdym chromatogramie HPLC-MS mieszaniny saponin, otrzymanym z różnych odmian i części korzeni świeżych buraków (tabela 6, rysunek 13) i ich przetworów (tabela 13). Z przeprowadzonej analizy ilościowej zawartości poszczególnych saponin w ich mieszaninie wynika, że związek ten występuje w największej ilości spośród saponin, a w czasie ogrzewania ulega degradacji od 27–65% w zależności od odmiany buraka i jego części. Z kolei po przechowywaniu buraków straty tej saponiny w porównaniu do jej zawartości w świeżych burakach wynosiły 37–72% w zależności od odmiany i części korzeni. Przykładowo, w świeżych skórach gorzkich buraków Chrobry zawartość tej saponiny wynosi 1379,9 μg/g s.m., a po ogrzewaniu obniżyła się do 916,0 μg/g s.m. i po przechowywaniu do 306,8 μg/g s.m. Straty saponin jako związków gorzkich w czasie ogrzewania i przechowywania buraków wyjaśniają istotne obniżenie odczucia smaku i posmaku gorzkiego przetworów ogrzewanych i przechowywanych.

5. ZNACZENIE METABOLITÓW WTÓRNYCH W KSZTAŁTOWANIU SMAKU I WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNYCH BURAKA ĆWIKŁOWEGO I JEGO PRZETWORÓW

5.1. Analiza sensoryczna smaku gorzkiego saponin wyizolowanych z buraka ćwikłowego i porównanie ich stężenia gorzkiego do wzorca smaku gorzkiego kofeiny oraz sojasaponiny I

Wybrani oceniający przebadali oczyszczone metodą ekstrakcji do fazy stałej (SPE) i odparowane do sucha próbki zawierające mieszaniny saponin triterpenowych wyizolowane z miąższów i skór korzeni buraka ćwikłowego trzech odmian. Do badań sensorycznych przygotowano wodne roztwory mieszanin saponin. Szczegółowy sposób oczyszczania i identyfikacji wyizolowanych saponin przedstawiono w rozdziale 3 pkt 3.1. Procedurę selekcji i przygotowania zespołu osób wybranych oceniających przedstawiono w rozdziale 3 pkt 3.1.5.

Zespół 11 wybranych osób przeprowadził ocenę czterech różnych stężeń wodnych roztworów saponin w celu wyznaczenia tzw. progu rozpoznania, czyli najmniejszego wyczuwalnego gorzkiego stężenia wodnych roztworów mieszanin saponin.

Rodzaj jakości smakowej (smak gorzki, słodki i cierpki lub kwaśny) wykazywanej przez ekstrakt saponinowy został przypisany przez wybranych oceniających w tzw. teście kontrolnym (próbka E_0), w którym oceniano wodny roztwór saponin o stężeniu w zakresie od 0,14 do 0,85 g /l, w zależności od części korzeni analizowanych odmian. Wodne roztwory saponin, zostały przygotowane przez rozcieńczenie 0,4-procentowego wodnego ekstraktu mieszanin saponin, otrzymanych ze skór lub miąższów z trzech odmian korzeni buraków ćwikłowych.

W celu znalezienia najniższego gorzkiego stężenia mieszanin saponin wyizolowanych z miąższu i skóry trzech odmian buraka ćwikłowego zostały przygotowane różne stężenia wodnych roztworów mieszaniny saponin.

Wyekstrahowane mieszaniny saponin rozpuszczono w wodzie niegazowanej (Dobrovianka: pH 6,7, niskozmineralizowana 420 mg /l), przygotowując cztery różne stężenia w zakresie od 0,025 do 0,140 g/l dla mieszanin saponin wyizolowanych z miąższów i od 0,017 do 0,128 g/l dla mieszanin saponin wyizolowanych ze skór trzech analizowanych odmian korzeni buraka ćwikłowego (tabela 16).

Ocenę intensywności smaku i posmaku gorzkiego przeprowadzano z wykorzystaniem skali liniowej z siedmioma jednostkami umownymi (j.u.) z oznaczonymi określeniami brzegowymi (górny brzeg – niewyczuwalny, dolny brzeg – bardzo intensywny). Natężenie not smakowych mierzono od 0 (smak gorzki niewyczuwalny) do 7 (smak gorzki bardzo intensywny). Zastosowano skalę liniową strukturowaną, czyli podzieloną na równe odcinki. Analizy sensoryczne przeprowadzano techniką przepłukiwania jamy ustnej, ang. *sip-and-spit* (Frank i in., 2005).

Spośród czterech różnych stężeń każdej mieszaniny saponin wybrani oceniający wskazali najniższe stężenie smaku lub posmaku gorzkiego, które możliwe było do identyfikacji, zwane progiem rozpoznania smaku gorzkiego (rodzaje progów zostały omówione w rozdziale 3 pkt 3.1.5). Osoby oceniające rozpoznały minimalne natężenie smaku gorzkiego w wodnych roztworach oczyszczonych mieszanin saponin, określając je jako „słaby smak gorzki", jednak możliwy do identyfikacji. Wyniki ocen sensorycznych z zaznaczonymi progami rozpoznania, czyli najniższymi stężeniami poszczególnych mieszanin saponin powodujących smak lub posmak gorzki, przedstawiono na rysunku 17. W ramkach zaznaczono progi rozpoznania smaku lub posmaku gorzkiego poszczególnych mieszanin saponin buraka ćwikłowego.

Tabela 16. Zawartość saponin triterpenowych w wodnych roztworach mieszanin saponin poddanych analizie sensorycznej [g/l]

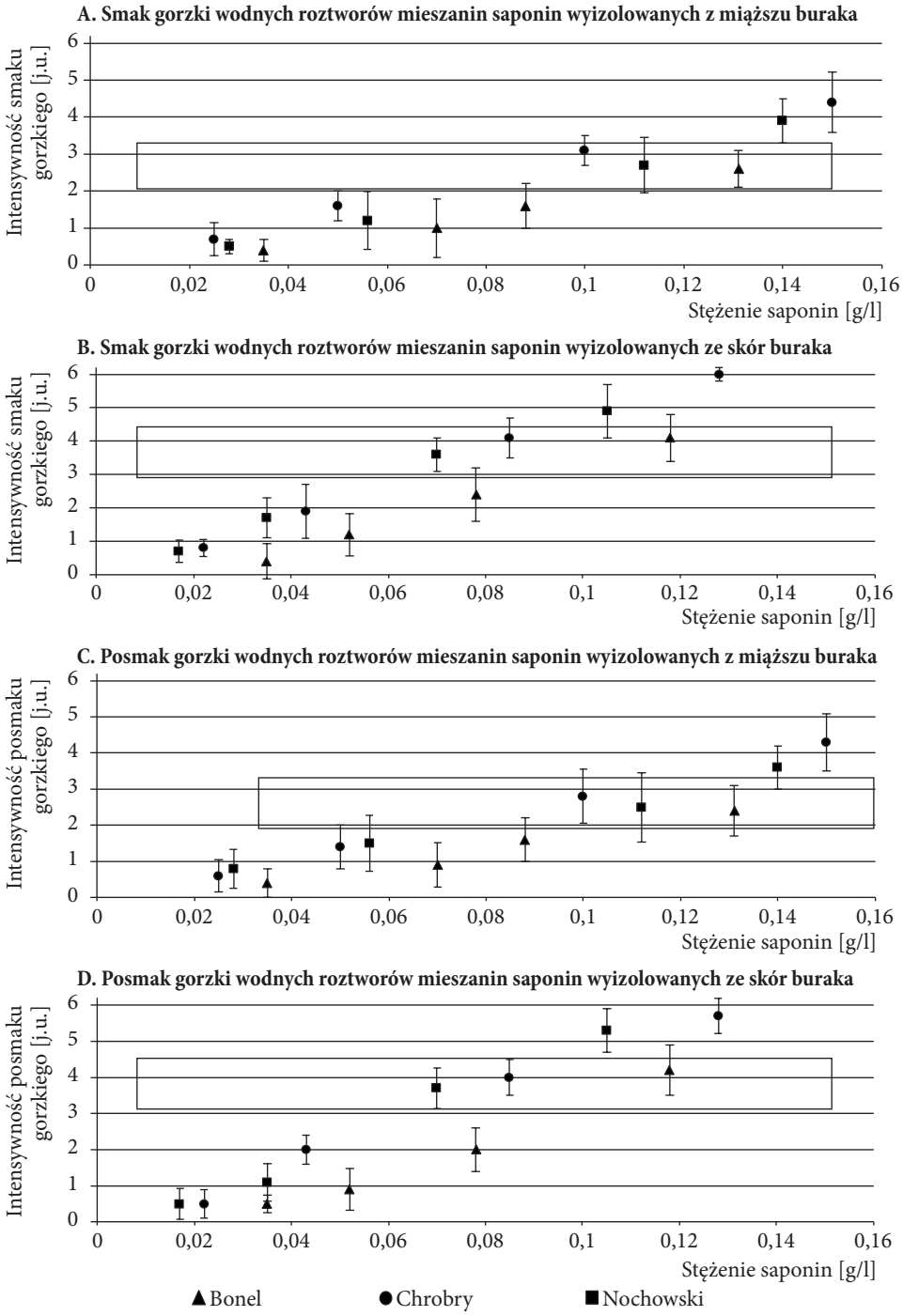
Nr stężenia	Bonel		Chrobry		Nochowski	
	miąższ	skóra	miąższ	skóra	miąższ	skóra
1	$0{,}035^{a,E}$	$0{,}035^{a,E}$	$0{,}025^{a,D}$	$0{,}022^{a,B}$	$0{,}028^{a,C}$	$0{,}017^{a,A}$
2	$0{,}070^{b,F}$	$0{,}052^{b,D}$	$0{,}050^{b,C}$	$0{,}043^{b,B}$	$0{,}056^{b,E}$	$0{,}035^{b,A}$
3	$0{,}088^{c,D}$	$0{,}078^{c,B}$	$0{,}100^{c,E}$	$0{,}085^{c,C}$	$0{,}112^{c,F}$	$0{,}070^{c,A}$
4	$0{,}131^{d,D}$	$0{,}118^{d,B}$	$0{,}150^{d,F}$	$0{,}128^{d,C}$	$0{,}140^{d,E}$	$0{,}105^{d,A}$

[a–d] Zawartość saponin triterpenowych w roztworach wodnych poddanych analizie sensorycznej różni się istotnie w zależności od stężenia (istotne różnice między średnimi w kolumnach) ($p < 0{,}05$).

[A–F] Zawartość saponin triterpenowych w roztworach wodnych poddanych analizie sensorycznej różni się istotnie w obrębie danego stężenia (istotne różnice między średnimi w wierszach) ($p < 0{,}05$).

Źródło: Badania własne.

W badaniach sensorycznych intensywności gorzkości ekstraktów saponinowych wyznaczono progi gorzkich stężeń mieszanin saponin wyizolowanych z odmian Bonel, Chrobry i Nochowski (osobno ze skór i miąższu) i porównano je do poziomu stężenia gorzkiego kofeiny. W tym celu zastosowano metodę wielokrotnych



Ramką zaznaczono progi rozpoznania smaku lub posmaku gorzkiego saponin porównywalne do 0,194g/l kofeiny

Rysunek 17. Wyniki analizy sensorycznej intensywności smaku i posmaku gorzkiego różnych stężeń wodnych roztworów mieszanin saponin wyizolowanych z miąższu i skóry korzeni trzech odmian buraka ćwikłowego

Źródło: Badania własne.

porównań (przyporządkowania do gorzkiego wzorca próbek ekstraktów E_I, E_{II}, E_{III} i E_{IV}) (Baryłko-Pikielna i Matuszewska, 2009).

Ocena polegała na porównaniu gorzkości badanej próbki (czterech różnych stężeń mieszanin saponin) z szeregiem wzorcowych roztworów kofeiny i znalezieniu próbki (wodnego roztworu mieszaniny saponin o najmniejszym wyczuwalnym gorzkim stężeniu) najbardziej zbliżonej do gorzkiego wzorca kofeiny, o wcześniej wyznaczonym progowym gorzkim stężeniu. W metodzie tej, jako wzorca substancji gorzkiej użyto kofeiny w ośmiu (C_1–C_8) odmiennych stężeniach (0,15, 0,17, 0,19, 0,21, 0,23, 0,25, 0,27 i 0,29 g/l). Wszystkie analizy przeprowadzono w trzech niezależnych powtórzeniach w laboratorium sensorycznym przez 11-osobowy przeszkolony zespół. Wybór i szkolenie zespołu oceniającego zostały opisane w rozdziale 3 pkt 3.1.5. Określono następujące progowe stężenia gorzkich mieszanin saponin wyizolowanych z miąższu: 0,131, 0,100 i 0,112 g/l, oraz ze skór: 0,118, 0,085 i 0,070 g/l odpowiednio dla odmian Bonel, Chrobry i Nochowski. Natomiast próg gorzkiego stężenia roztworu kofeiny został wyznaczony przez wybranych oceniających na poziomie 0,25 g/l (spośród ośmiu ocenianych stężeń wodnego roztworu kofeiny: 0,15, 0,17, 0,19, 0,21, 0,23, 0,25, 0,27 i 0,29 [g/l]). Kofeinę i suche ekstrakty mieszanin saponin przed analizami sensorycznymi rozpuszczono w wodzie niskozmineralizowanej 420 mg/l, Dobrovianka: pH 6,7, która nie wykazywała smaku i posmaku gorzkiego. W tabeli 17 przedstawiono porównanie ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych z różnych części i odmian korzeni buraków ćwikłowych do gorzkiego wzorca smaku kofeiny lub gorzkiej saponiny (sojasaponiny I).

Proponowany wzorzec substancji gorzkiej sojasaponiny I w badaniach smaku gorzkiego saponin triterpenowych korzeni buraka ćwikłowego

Smak gorzki jest możliwy do rozpoznania przez ludzi dzięki obecności receptorów sprzężonych z białkiem G, (GPCR) (Reichling Meyerhof i Behrens, 2008). Obecnie znanych jest około 30 białek receptorowych zaliczanych do receptorów smaku gorzkiego (TAS2R). Smak gorzki różnych substancji znajdujących się w żywności jest rozpoznawany przez te receptory (TAS2R), które znajdują się w tzw. komórkach receptorowych smaku gorzkiego (Biarnés i in., 2010; Kuhn, Bufe, Batram i Meyerhof, 2010; Shi i Zhang, 2006). Za pomocą receptorów TAS2R możliwe jest rozpoznawanie w zasadzie wszystkich prostych i złożonych matryc smaku gorzkiego obecnych w żywności. Poszczególne typy receptorów TAS2R (np. TAS2R 10, TAS2R 46) wykazują zdolność rozpoznania ściśle określonych grup związków gorzkich. Może się zatem zdarzyć, że nie wszystkie osoby posiadają dany receptor lub receptory TAS2R (nie odziedziczyły tej zdolności) i dana grupa związków nie będzie dla tych osób gorzka. Dane literaturowe wskazują, że receptory smaku gorzkiego różnią się szerokością strojenia, czyli możliwością rozpoznawania konkretnych gorzkich

związków chemicznych. Spośród wszystkich znanych receptorów smaku gorzkiego tylko trzy z nich są zdolne do rozpoznawania ponad połowy związków gorzkich występujących w naturze, jednak większość receptorów smaku gorzkiego, które występują u ludzi, jest zdolna rozpoznać wyłącznie specyficzną grupę związków gorzkich lub pojedyncze związki gorzkie (Behrens i Meyerhof, 2013; Kikut-Ligaj, 2015). Receptory smaku gorzkiego stają się wówczas aktywne, jeśli rozpoznana gorzka substancja znajduje się w odpowiednim stężeniu (zwykle milimolowym) (Kikut-Ligaj, 2015). Ludzie różnią się percepcją smaku gorzkiego (wrażliwością na smak gorzki), co wiąże się z obecnością w organizmie człowieka różnych receptorów smaku gorzkiego. Różnice w określaniu poziomu intensywności smaku gorzkiego różnych produktów spożywczych w zależności od wrażliwości sensorycznej osób oceniających są istotnym zagadnieniem wpływającym bezpośrednio na końcowy wynik przeprowadzanej analizy sensorycznej.

Zagadnienia dotyczące wyboru i szkolenia kandydatów na osoby oceniające smak różnych produktów żywnościowych są kluczowe dla uzyskania poprawnych i odtwarzalnych wyników prowadzonych analiz sensorycznych. W analitycznych badaniach sensorycznych osoby kandydujące do zespołu osób oceniających (wybrani oceniający) powinny wykazywać wysoką i średnią wrażliwość sensoryczną. Osoby z niską wrażliwością sensoryczną nie są kwalifikowane do zespołu osób oceniających (Dinehart, Hayes, Bartoshuk, Lanier i Duffy, 2006; Kikut-Ligaj, 2014a, 2014b, 2015).

Ze względu na to, że większość receptorów smaku gorzkiego jest pobudzana przez określone, mało specyficzne gorzkie substancje, wybór wzorcowej substancji smaku gorzkiego nie jest łatwy. W analitycznych badaniach sensorycznych nad smakiem gorzkim saponin triterpenowych wyizolowanych z buraka ćwikłowego proponuje się wykorzystanie jako substancji wzorcowej gorzkiej saponiny – sojasaponiny I, która wykazuje podobieństwo do ocenianych substancji pod względem struktury chemicznej. Niektóre bardzo gorzkie związki występujące w żywności są optymalnymi receptorami dla innych gorzkich bodźców smakowych z uwagi na to, że pobudzają największą grupę receptorów smaku gorzkiego (TAS2R) (Kikut-Ligaj, 2015).

W badaniach zdolności rozpoznawania smaku gorzkiego w żywności zalecaną substancją wzorcową dla smaku gorzkiego jest kofeina (1,3,7-trimetyloksantyna), należąca do alkaloidów. Spośród innych wzorców substancji gorzkich stosowanych w badaniach smaku gorzkiego wymienia się chininę, propylotiouracyl i gorzkie peptydy (Koprivnjak, Škevin, Petričević, Brkić Bubola i Mokrovčak, 2009). Ze względu na to, że wśród wzorców substancji gorzkich nie wymienia się saponin, które pod względem struktury chemicznej wykazywałyby podobieństwo do badanych saponin triterpenowych, wyizolowanych z różnych odmian buraka ćwikłowego, podjęto próbę porównania wyizolowanych mieszanin saponin do gorzkiej saponiny dostępnej w handlu. W tym celu użyto sojasaponiny I (sojasaponina Bb, $C_{48}H_{78}O_{18}$, m.cz. 943,12 g/mol, firmy Sigma-Aldrich), która jest stosowana jako substancja wzorcowa w oznaczeniach ilościowych saponin (UHPLC-CAD-MS).

Doświadczenie zostało przeprowadzone w ten sam sposób, w jaki porównywano mieszaniny saponin z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego do gorzkiego wzorca kofeiny. Na podstawie przeprowadzonych analiz sensorycznych z udziałem wybranych oceniających wyznaczono progowe gorzkie stężenie wodnego roztworu sojasaponiny I. Oceniano następujące stężenia roztworów sojasaponiny I: 0,009, 0,019, 0,029, 0,099, 0,332, 0,432 g/l. Wyznaczony próg gorzkiego stężenia wodnego roztworu sojasaponiny I wysosił 0,099 g/l. Następnie wybrani oceniający porównywali natężenie smaku gorzkiego badanych mieszanin saponin z sześcioma roztworami wzorcowymi sojasaponiny I, przyporządkowując roztwory mieszanin saponin do roztworów sojasaponiny pod względem natężenia gorzkości. Stężenie saponin triterpenowych (tabela 16) wyizolowanych z różnych części trzech odmian buraka, wynoszące od 0,070 do 0,132 g/l, zostało przyporządkowane do gorzkiego stężenia sojasaponiny I wynoszącego 0,099 g/l (tabela 17).

Według danych dostępnych w literaturze sojasaponiny można podzielić na dwie grupy – saponiny A (gr. A) i saponiny DDMP (2,3-dihydro-2,5-dihydroksy-6-metylo-4-piron, gr. DDMP, sojasaponina βg). Podział na grupy determinuje struktura aglikonu. Aglikonem w grupie saponin A jest sojasapogenol A, a w grupie saponin DDMP sojasapogenol B, przy czym saponina DDMP może ulegać przemianie do sojasaponiny B (sojasaponina I, βb), której aglikonem jest również sojasapogenol B (gr. B), lub do sojasaponiny E posiadającej sojasapogenol E (gr. E) jako aglikon. Podział sojasapogenin i ich struktury zostały przedstawione w publikacji Chitisankul i in. (2018). Nomenklatura wszystkich składników saponin pochodzi z różnego połączenia tych trzech struktur aglikonów i różnego ułożenia reszty cukrowej każdego aglikonu. Różne struktury chemiczne sojasaponin mają odmienne właściwości lecznicze i cechy smakowe (Chitisankul i in., 2018).

Przemiana saponiny DDMP do saponiny B następuje pod wpływem działania podwyższonej temperatury, stężenia alkoholu etylowego ≤ 30% (v/v) czy kwaśnego lub zasadowego pH (Heng i in., 2006a). Działanie podwyższonej temperatury 60°C przez 24 godziny prowadzi do niemal całkowitego przekształcenia struktury saponiny DDMP w strukturę saponiny B (Reim i Rohn, 2015).

Sojasaponina I obecna w wysuszonych ziarnach grochu zwyczajnego *Pisum sativum* powoduje gorzki i cierpki smak produktów otrzymanych z grochu (Tsurumi, Takagi i Hashimotoq, 1992).

Heng i współpracownicy (2006b) wykazali, że w suchych ziarnach grochu występuje więcej sojasaponiny DDMP niż sojasaponiny I, ale oba związki powodują smak gorzki suchych ziaren grochu. Stosunek zawartości sojasaponiny I do sojasaponiny DDMP w grochu wynosi 1 : 4. W badaniach tych wyznaczono gorzkie stężenie sojasaponiny I, które wynosiło od 0,002g/l (wyznaczone przez pięć osób spośród 13 oceniających) do 0,012 g/l (wyznaczone przez 12 osób oceniających) (tabela 17) (Heng i in., 2006b). Wykazano też, że obie saponiny mają gorzki smak, którego intensywność wzrasta wraz ze stężeniem, ale saponina DDMP jest znacznie bardziej gorzka niż saponina B.

W eksperymencie tym oceniano też smak mieszaniny obu saponin B i DDMP, których stosunek zawartości wynosił 1 : 4. Intensywność gorzkości tej mieszaniny była znacznie wyżej oceniana niż gorzkość tych samych stężeń wodnego roztworu sojasaponiny B. Jak podają autorzy, nie można wykluczyć efektu synergistycznego w percepcji goryczy dla saponiny DDMP i saponiny B (obecnych w mieszaninie).

Jak wynika z badań własnych, wyznaczony przez zespół osób oceniających próg rozpoznania smaku gorzkiego, czyli próg gorzkiego stężenia roztworu sojasaponiny I na poziomie 0,099 g/l, był około 8-krotnie wyższy niż próg gorzkiego stężenia sojasaponiny I wyznaczony przez zespół osób oceniających kierowanych przez Heng i współpracowników (2006b). Z kolei przy określaniu progowego gorzkiego stężenia kofeiny różnica między progiem rozpoznania smaku gorzkiego dla kofeiny wynoszącym 0,250 g/l, wyznaczonym przez zespół wybranych oceniających w badaniach własnych, a progiem (0,194 g/l), wyznaczonym przez zespół osób kierowanych przez naukowców Dawid i Hofmann, (2014) oraz podanym w normie, była niewielka (tabela 17). Zgodnie z normą PN-ISO 3972:2016–07 zalecane stężenia roztworów wzorcowych (np. sacharozy, kwasu cytrynowego, chlorku sodu czy kofeiny) służące do oceny zdolności rozpoznawania podstawowych jakości smaku wynoszą 5,76 g/l dla sacharozy, 0,28 g/l dla kwasu cytrynowego, 1,19 g/l dla chlorku sodu i 0,195 g/l dla kofeiny, przy czym roztwory o takich stężeniach stosuje się przy wstępnej selekcji kandydatów na osoby oceniające (jest to test na daltonizm smakowy, polegający na ocenie zdolności rozpoznawania podstawowych wyróżników smaku) (Baryłko-Pikelna i Matuszewska, 2009).

Tabela 17. Porównanie progów rozpoznania smaku gorzkiego ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych z buraka ćwikłowego do gorzkiego wzorca kofeiny oraz sojasaponiny I

Odmiana buraka ćwikłowego	Część buraka	Substancja	Próg rozpoznania smaku gorzkiego [g/l]
–	–	kofeina	0,195*
–	–	kofeina	0,250
–	–	sojasaponina I	0,002–0,012**
–	–	sojasaponina I	0,099
Bonel	miąższ	saponiny triterpenowe	0,131
	skóra	saponiny triterpenowe	0,118
Chrobry	miąższ	saponiny triterpenowe	0,100
	skóra	saponiny triterpenowe	0,085
Nochowski	miąższ	saponiny triterpenowe	0,112
	skóra	saponiny triterpenowe	0,070

* Norma PN-ISO 3972:2016–07.
** Heng i in., 2006b.

Źródło: Badania własne.

Należy zauważyć, że stężenie progowe dla kofeiny jest znane z normy PN-ISO 3972:2016–07, ale dla sojasaponiny I nie zostało określone normą. Ze względu na ogromny postęp naukowy w kwestii izolacji i identyfikacji wielu metabolitów wtórnych roślin, w tym wykazujących smak gorzki (saponiny triterpenowe czy związki polifenolowe), modyfikacje stosowanych substancji wzorcowych do oceny rozpoznawania smaku gorzkiego są konieczne w celu zapewnienia najlepszego dopasowania badanego gorzkiego związku chemicznego do jego odpowiedniego receptora smaku gorzkiego, aktywowanego tylko przez specyficzne bodźce smakowe. Odpowiednie receptory smaku gorzkiego będą pobudzane przez specyficzne gorzkie związki chemiczne, występujące w określonych stężeniach i wykazujące odpowiednią czułość na dany typ receptorów. Badane saponiny buraka ćwikłowego wykazują chemiczne podobieństwo do sojasaponiny I.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ekstrakty zawierające od 0,070 do 0,132 g/l saponin triterpenowych z buraka ćwikłowego są porównywalne pod względem intensywności smaku gorzkiego do 0,250 g/l kofeiny. Według normy PN-ISO 3972:2016–07 stężenie kofeiny zalecane do oceny zdolności rozpoznawania smaku gorzkiego wynosi 0,195 g/l. Natomiast dla każdej odmiany badanych korzeni buraka ćwikłowego wyznaczono próg rozpoznania smaku gorzkiego ekstraktów saponin wyizolowanych z miąższu lub skóry, które przedstawiono w tabeli 18. Takie stężenie saponin powoduje odczucie smaku gorzkiego porównywalne do 0,25 g/l wodnego roztworu kofeiny.

Mając na uwadze 10-procentową wydajność liofilizacji (z 1 kg świeżych buraków ćwikłowych otrzymano 100g liofilizatu), obliczono zawartość saponin w kilogramie świeżych korzeni buraków ćwikłowych. W przeliczeniu na świeżą masę korzeni buraka ćwikłowego zawartość saponin w 1 kg świeżego surowca wynosiła od 0,0131 do 0,1963 g, w zależności od analizowanej odmiany. W przeliczeniu na zawartość procentową saponin kilogram świeżych buraków ćwikłowych zawiera od 0,0013 do 0,019% saponin triterpenowych, w zależności od odmiany i części korzeni (tabela 18).

Zawartość saponin triterpenowych w 1 kg świeżego miąższu korzeni buraków ćwikłowych odmiany Bonel wynosi 0,0131 g, natomiast wyznaczone najmniejsze stężenie powodujące smak gorzki (próg rozpoznania smaku gorzkiego) mieszanin saponin wyizolowanych z miąższu tej odmiany wynosiło 0,131 g/l i było 10-krotnie większe od stężenia saponin w miąższu (tabela 18). W ocenach sensorycznych świeżego miąższu buraka odmiany Bonel zespół wybranych oceniających wskazał dominujący smak słodki tej części buraka, bez wyraźnego odczucia cech goryczkowych.

Z kolei zawartość saponin w 1 kg świeżych skór otrzymanych z tej samej odmiany wynosi 0,0684g, a najmniejsze stężenie mieszanin saponin wyizolowanych ze skór powodujące smak gorzki wynosiło 0,118 g/l, a więc było 1,7 razy większe

Tabela 18. Porównanie zawartości saponin triterpenowych buraka ćwikłowego do wyznaczonych progów rozpoznania smaku gorzkiego

Odmiana buraka ćwikłowego	Część buraka	Zawartość saponin w świeżych burakach [g/kg]	Próg rozpoznania smaku gorzkiego* [g/l]	Dominujący smak świeżych korzeni buraków
Bonel	miąższ	$0{,}0131^{e} \pm 0{,}002$	$0{,}131^{A}$	słodki
	skóra	$0{,}0684^{d} \pm 0{,}007$	$0{,}118^{B}$	słodki
Chrobry	miąższ	$0{,}1524^{b} \pm 0{,}008$	$0{,}100^{D}$	gorzki
	skóra	$0{,}1963^{a} \pm 0{,}035$	$0{,}085^{E}$	gorzki
Nochowski	miąższ	$0{,}1116^{c} \pm 0{,}014$	$0{,}112^{C}$	gorzki
	skóra	$0{,}1359^{b} \pm 0{,}019$	$0{,}070^{F}$	gorzki

* Progowe stężenie saponin powodujących smak gorzki, wyznaczone na podstawie analitycznych badań sensorycznych.

a–d Wartości średnie, zawartości saponin w świeżych burakach, różnią się istotnie statystycznie w zależności od odmiany i części korzeni (test Tukeya, $p < 0{,}05$).

A–D Progowe stężenie saponin powodujących smak gorzki nie różni się istotnie statystycznie ($p < 0{,}05$).

± Odchylenie standardowe.

Źródło: Badania własne.

niż zawartość saponin w kilogramie świeżych skór. Analiza wskazuje, że zawartość saponin triterpenowych w skórach korzeni buraków odmiany Bonel jest zbyt mała, żeby można wyczuć smak gorzki. Tak samo jest w przypadku miąższu tej odmiany, gdzie zawartość saponin jest jeszcze niższa niż w skórze (ponad 5-krotnie), zatem zbyt niska, żeby wyczuć smak gorzki (poniżej wyznaczonego progu odczuwania gorzkiego smaku mieszanin saponin).

Pomimo obecności saponin triterpenowych w korzeniach odmiany Bonel, które przyczyniają się do odczucia smaku gorzkiego w tym surowcu, ich zawartość w skórze i miąższu jest na tyle niska, że gorzkość nie jest wyczuwana w czasie konsumpcji tego surowca. Teza ta znalazła potwierdzenie w przeprowadzonych badaniach sensorycznych, w których oceniany miąższ i skóra korzeni odmiany Bonel nie wykazywały dominującego smaku gorzkiego, lecz był to smak słodki.

Analizując zawartość saponin triterpenowych w miąższu odmiany Chrobry, stwierdzono, że 1 kg świeżego miąższu korzeni tej odmiany zawiera 0,1524 g saponin, natomiast saponiny wyizolowane z miąższu tej odmiany o stężeniu wynoszącym 0,100 g/l powodowały odczuwanie smaku gorzkiego. Z kolei zawartość saponin w 1 kg świeżych skór tej odmiany wynosiła 0,1964 g, a ekstrakt saponin otrzymany ze skór badanej odmiany o stężeniu wynoszącym 0,085 g/l powodował odczuwanie gorzkości. Zatem 1 kg świeżych skór odmiany Chrobry zawierał ponad dwukrotnie więcej saponin triterpenowych niż ich poziom warunkujący gorzki

smak ekstraktów saponin. Podobnie wyniki zawartości saponin przedstawiają się w miąższu, gdzie ich zawartość jest większa niż w przypadku gorzkiego stężenia wyizolowanych saponin. Wyniki przeprowadzonej analizy sensorycznej korzeni tej odmiany potwierdzają zdecydowanie dominujący smak gorzki, wyczuwany zarówno w miąższu, jak i skórze.

Z kolei w odmianie Nochowski w 1 kg świeżego miąższu lub skór korzeni zawartość saponin wynosiła odpowiednio 0,1116 g i 0,1359 g. Stężenie saponin powodujące odczucie smaku gorzkiego w ekstraktach otrzymanych z miąższu lub skór tej odmiany wynosiło odpowiednio 0,112 g/l i 0,070 g/l. Podobny poziom zawartości saponin w miąższu i niemal dwukrotnie wyższy w skórach badanej odmiany, do poziomu stężenia saponin powodującego odczucie smaku gorzkiego, wskazuje na smak gorzki surowca.

Obserwacje te zostały potwierdzone wynikami analizy sensorycznej korzeni buraka odmiany Nochowski, z której wynika, że dominującym smakiem buraków ćwikłowych odmiany Nochowski jest smak gorzki.

Analiza zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego ma duże znaczenie z punktu widzenia oceny towaroznawczej poszczególnych odmian korzeni buraka i ich przeznaczenia na konkretne produkty spożywcze i przetwory. Przykładowo, odmiana o niewyczuwalnym smaku gorzkim – Bonel – może być przeznaczona w przetwórstwie spożywczym do produkcji soków niepasteryzowanych, jednodniowych, a świeże buraki z tej odmiany mogą być wykorzystywane do produkcji różnych świeżych mieszanek warzywnych, w których świeże buraki ćwikłowe znajdują się w postaci wiórków czy plastrów, obok innych składników, jakimi są zwykle różne rodzaje sałat, świeżej kapusty czy marchew. W takich produktach jakość sensoryczna jest bardzo ważną cechą surowca. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że odmiany takie jak Chrobry czy Nochowski w mniejszym stopniu nadają się do produkcji soków jednodniowych, niepasteryzowanych, z uwagi na niekorzystne, dominujące cechy goryczkowe, ale odmiany te mogą być przydatne do produkcji wszelkich przetworów pasteryzowanych i przechowywanych, ponieważ proces pasteryzacji czy ogrzewania powoduje istotne zmniejszenie odczuwania smaku gorzkiego tych odmian.

Według Heng i in. (2006a) procesy technologiczne związane z przetwarzaniem grochu, np. gotowanie, mogą prowadzić do spadku goryczy w otrzymywanych produktach spożywczych, ponieważ saponina DDMP jest przekształcana w mniej gorzką saponinę B (Heng i in., 2006a). Można jednocześnie zauważyć, że procesy związane z obróbką termiczną poprawiają jakość sensoryczną tego surowca i jego przetworów. Rozpatrując zawartość saponin triterpenowych w grochu zwyczajnym, którego smak gorzki jest związany z obecnością sojasaponin DDMP i B, stwierdza się podobną zależność. Zawartość saponiny DDMP w grochu wynosi od 0,7 do

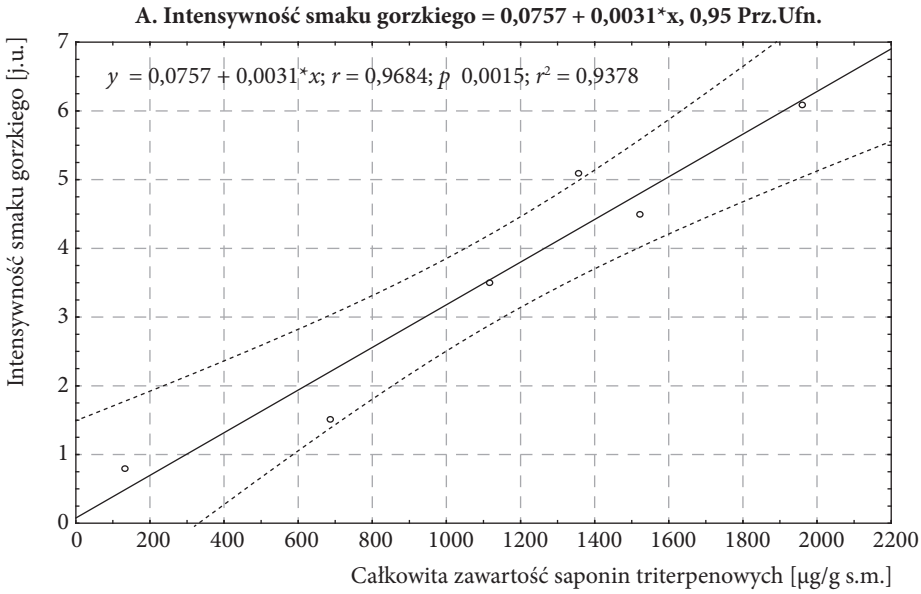
1,5 g/kg w zależności od odmiany, a saponiny B od 0 do 0,4 g/kg, natomiast stężenie gorzkie mieszaniny obu saponin DDMP i B wynosiło od 0,002 do 0,012 g/l, w zależności od liczby osób zdolnych do rozpoznania smaku gorzkiego. Było to stężenie znacznie niższe niż zawartość obu saponin w surowcu. Stwierdzono, że odmiany grochu, które mają wysoką zawartość saponin DDMP lub wysoką całkowitą zawartość saponin, są bardziej gorzkie niż odmiany o niskiej zawartości saponin (Heng i in., 2006a).

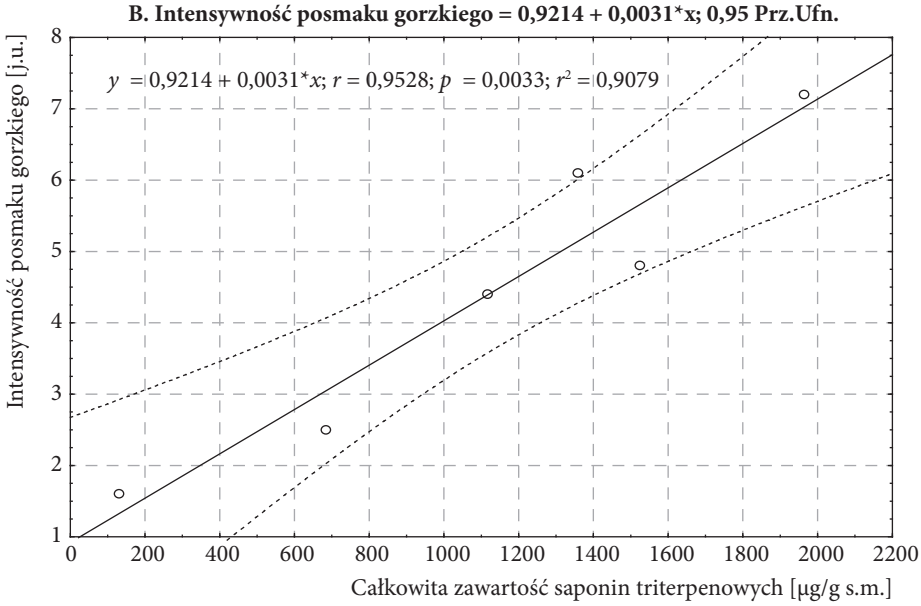
Analizując wartości stężeń progowych dla smaku gorzkiego innych substancji obecnych w żywności powodujących gorzki smak, stwierdza się ich różny poziom w zależności od analizowanego związku. Przykładowo, stężenie naringiny powodujące odczucie smaku gorzkiego w roztworze wodnym wynosi 20 mg/kg (Ribeiro, I. A i Ribeiro, M.H. L, 2008). Sok grejpfrutowy zawiera od około 377 do 476 mg/l naringiny, która jest gorzkim glikozydem naringeniny oraz disacharydu rutynozy (Ribeiro, I. A i Ribeiro, M.H. L, 2008; Czapski i Górecka, 2014). Naringina jest związkiem należącym do flawonoidów powodującym odczucie smaku gorzkiego grejpfrutów przy stężeniu narynginy od 300 do 400 mg/l soku (Ribeiro, I. A i Ribeiro, M.H. L, 2008; La CavaSonia i Sgroppo, 2015).

5.2. Korelacja między zawartością saponin w świeżym buraku ćwikłowym a smakiem i posmakiem gorzkim

Aby określić, czy cechy goryczkowe i zawartość saponin w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego mają cechy związku prostoliniowego, wyliczono wartość współczynnika korelacji Pearsona. Współczynnik ten mierzy siłę i kierunek liniowego związku pomiędzy dwiema zmiennymi. Analizę korelacji przeprowadzono przy poziomie istotności 0,05. Stwierdzono wysoką korelację między intensywnością cech goryczkowych a zawartością saponin triterpenowych w miąższu i skórze świeżych buraków ćwikłowych Bonel, Chrobry i Nochowski. Korelacja ta była istotna statystycznie.

Wartość współczynnika korelacji Pearsona dla smaku gorzkiego wynosiła $r = 0{,}9684$, a dla posmaku gorzkiego $r = 0{,}9528$, co wskazuje na to, że między analizowanymi cechami występuje bardzo wysoka dodatnia korelacja (rysunek 18). Wzrostowi cech goryczkowych towarzyszy wzrost całkowitej zawartości saponin w zależności od analizowanej odmiany. Bardzo wysoka korelacja dowodzi, że smak gorzki w świeżych burakach ćwikłowych badanych odmian zależy od zawartości saponin w analizowanym surowcu.





Rysunek 18. Wykres rozrzutu: intensywność smaku gorzkiego (A) oraz intensywność posmaku gorzkiego (B), względem całkowitej zawartości saponin w skórze i miąższu korzeni trzech odmian buraka ćwikłowego Bonel, Chrobry i Nochowski

Źródło: Badania własne.

5.3. Model regresji liniowej związku między intensywnością cech goryczkowych a zawartością saponin w buraku ćwikłowym i jego przetworach

Modelem regresji liniowej opisano związek między intensywnością cech goryczkowych korzeni buraka ćwikłowego (jako zmienną zależną Y) a całkowitą zawartością saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego (jako zmienną niezależną oznaczoną przez X). Założono, że w analizowanym modelu pomiędzy cechami goryczkowymi a całkowitą zawartością saponin w korzeniach buraka ćwikłowego zachodzi związek liniowy. Wyznaczono współczynnik determinacji (R^2) opisujący, jaka część ogólnej zmienności zmiennej zależnej (cech goryczkowych) jest wyjaśniona przez regresję liniową.

Im więcej obserwacji w analizowanym modelu regresji, tym większa precyzja oszacowania parametrów. W doświadczeniu przyjęto 18 obserwacji w modelu regresji na jedną zmienną. Dla zmiennej zależnej obserwacjami były wartości not ocen sensorycznych dla smaku gorzkiego (lub posmaku gorzkiego) buraków świeżych uzyskanych z sześciu ocenianych prób oraz ich przetworów ogrzewanych (uzyskanych z sześciu ocenianych prób) i przechowywanych (również uzyskanych z sześciu ocenianych prób). Próbami ocenianymi był świeży surowiec oraz jego przetwory ogrzewane i przechowywane z odmian: Bonel miąższ i skóra, Chrobry miąższ i skóra oraz Nochowski miąższ i skóra (łącznie otrzymano 18 obserwacji). Dla zmiennej niezależnej obserwacjami były wartości całkowitej zawartości saponin triterpenowych oznaczone w świeżym surowcu (trzech odmian, osobno w skórze i miąższu: razem sześć obserwacji) i jego przetworach ogrzewanych i przechowywanych (po sześć obserwacji). Łącznie otrzymano 18 obserwacji dla zmiennej niezależnej. Wszystkie analizy zostały przeprowadzone dla świeżych buraków i ich przetworów ogrzewanych oraz przechowywanych otrzymanych z odmian korzeni Bonel, Chrobry i Nochowski, osobno dla miąższu i skór.

Analizowano powiązanie między smakiem gorzkim a całkowitą zawartością saponin triterpenowych w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego dla 18 prób. Przedstawiono równanie regresji opisujące zależność zawartości saponin i smaku gorzkiego. Określono współczynniki modelu: smak = $b_1 \cdot$ saponiny + b_0, wyznaczone metodą najmniejszych kwadratów. Wyniki analizy regresji przedstawiono w tabeli 19. Współczynniki regresji wynoszą 0,336230 (wartość stała b_0) i 0,002696 (współczynnik b_1), zatem model ma postać (Stanisz, 2000):

$$\text{smak gorzki} = 0{,}002696 \cdot \text{saponiny} + 0{,}336230.$$

Jest to funkcja wyliczona metodą najmniejszych kwadratów na podstawie danych z próby losowej. Błąd standardowy estymacji (oznaczany jako S_e) wskazuje

przeciętną wielkość odchyleń wartości obserwowanych zmiennej zależnej od wartości wyliczonych (czyli teoretycznych) z modelu. Odchylenie standardowe reszt informuje o stopniu dopasowania modelu do danych empirycznych. Im mniejszy jest błąd standardowy estymacji, tym lepiej dopasowany model. W analizowanym modelu wartość błędu standardowego estymacji (S_e) wynosi 0,76290. Taka wartość S_e oznacza, że przewidywane wartości zmiennej Smak gorzki różnią się od wartości obserwowanych średnio o 0,76290. W efekcie model przyjmuje postać (Stanisz, 2000):

$$\text{smak gorzki} = 0{,}002696 \cdot \text{saponiny} + 0{,}336230 \pm 0{,}76290.$$

W modelu przedstawiono współczynniki regresji b_0 i b_1 jako szacunkowe współczynniki dla wszystkich obserwacji. Błąd, którym te współczynniki są obarczone, wynika ze średniego błędu szacunku parametru (to błąd informujący szacunkowo, jaka jest średnia rozbieżność między parametrami w rozpatrywanym modelu a jego realnymi ocenami) (Stanisz, 2000).

Wartości błędu szacunku parametru wynoszą 0,296734 dla parametru b_0 oraz 0,000325 dla b_1. Oznacza to, że przy wartości współczynnika kierunkowego wynoszącej 0,002696 średnio można się pomylić o 0,000325, a przy wartości na poziomie 0,336230 dla wyrazu wolnego można się pomylić średnio o 0,296734. Model ma postać (Stanisz, 2000):

$$\text{smak gorzki} = \underset{(0{,}000325)}{0{,}002696} \cdot \text{saponiny} + \underset{(0{,}296734)}{0{,}336230} \pm 0{,}76290.$$

Analizując w ten sam sposób model regresji liniowej dla kolejnej cechy zależnej, jaką jest posmak gorzki, opisano związek między intensywnością tej cechy (posmaku gorzkiego) a całkowitą zawartością saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego (zmienna niezależna). Wyniki analizy regresji dla posmaku gorzkiego jako zmiennej zależnej przedstawiono w tabeli 19B, z której wynika, że końcowy model ma postać (Stanisz, 2000):

$$\text{posmak gorzki} = \underset{(0{,}000356)}{0{,}003015} \cdot \text{saponiny} + \underset{(0{,}324980)}{0{,}788206} \pm 0{,}83553.$$

Z analizy regresji dla analizowanego modelu (smaku lub posmaku gorzkiego) wynika, że zmienna „całkowita zawartość saponin" ma istotny wpływ na zmienną „smak gorzki" lub „posmak gorzki". Na podstawie przeprowadzonej analizy regresji stwierdzono liniową zależność intensywności smaku lub posmaku gorzkiego od całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz ich produktów ogrzewanych i przechowywanych

po wcześniejszym ogrzewaniu. Analizowana regresja jest istotna (tabeli 19A i B). Stwierdzono, że całkowita zawartość saponin triterpenowych w świeżych korzeniach buraka oraz w przetworach ogrzewanych i przechowywanych ma istotny wpływ na intensywność odczuwania smaku (posmaku) gorzkiego. Ponadto wartość współczynnika determinacji R^2 = 0,8114 dla smaku gorzkiego oraz R^2 = 0,8176 dla posmaku gorzkiego oznacza dobre powiązanie między zmiennymi „smak gorzki" („posmak gorzki") i „całkowita zawartość saponin". Współczynnik determinacji daje nam odpowiedź na pytanie, jaka część ogólnej zmienności „smaku" („posmaku") gorzkiego (zmiennej zależnej) jest wyjaśniona przez model regresji liniowej. Z analizy regresji wynika, że przedstawiony model dla smaku gorzkiego wyjaśnia 81,1% badanej zmienności, a model dla posmaku gorzkiego 81,8% obserwowanej zmienności.

Tabela 19. Wyniki analizy regresji dla zmiennej zależnej: smak gorzki (A) i posmak gorzki (B)

A. Smak gorzki

***N* = 18**	**Podsumowanie regresji zmiennej zależnej: Smak gorzki (Analiza regresji smak gorzki) R= ,90076276 R^2 = ,81137354 Popraw. R2 = ,79958439 F(1,16) = 68,824 p <,00000 Błąd std. estymacji: ,76290**					
	b*	**Bł. std. z *b****	***b***	**Bł. std. z *b***	**t(16)**	***p***
W. wolny			0,336230	0,296734	1,133102	0,273866
Całkowita zawartość saponin	0,900763*	0,108578*	0,002696*	0,000325*	8,296007*	0,000000*

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

B. Posmak gorzki

***N* = 18**	**Podsumowanie regresji zmiennej zależnej: Posmak gorzki (Analiza regresji posmak gorzki) R = ,90423538 R^2= ,81764163 Popraw. R2 = ,80624423 F(1,16)=71,739 p < ,00000 Błąd std. estymacji: ,83553**					
	b*	**Bł. std. z *b****	***b***	**Bł. std. z *b***	**t(16)**	***p***
W. wolny			0,788206*	0,324980*	2,425398*	0,027492*
Całkowita zawartość saponin	0,904235*	0,106759*	0,003015*	0,000356*	8,469907*	0,000000*

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

Źródło: Badania własne.

W tabeli 20 przedstawiono informacje o przeprowadzonej analizie, służące weryfikacji badanych modeli. W analizie regresji wielokrotnej zastosowano test F (Fishera-Snedecora), służący do weryfikacji istotności wszystkich parametrów. Za pomocą testu F weryfikowano jednocześnie trzy hipotezy zerowe: $H_0 : b_1 = 0$

(istotność współczynnika kierunkowego); $H_0 : R^2 = 0$ (istotność współczynnika determinacji R^2) oraz H_0: $b_1x + b_0 = 0$ (istotność liniowego związku pomiędzy badanymi zmiennymi). Na postawie analizy wariancji w regresji dla analizowanych danych, odrzucono hipotezę zerową o braku istotności na poziomie $p = 0{,}000000$. Ze względu na dopasowanie linii prostej do badanych obserwacji całkowita suma kwadratów odchyleń (CSK) zmiennej zależnej od średniej (49,36944 i 61,25111 odpowiednio dla modelu dla zmiennej zależnej – smak gorzki i posmak gorzki) została podzielona na sumę kwadratów (WSK) wyjaśnioną przez regresję (40,05706 i 50,08146 odpowiednio dla modelu dla zmiennej zależnej – smak gorzki i posmak gorzki) i sumę kwadratów (RSK) niewytłumaczoną przez regresję (9,31238 i 11,16965 odpowiednio dla modelu dla zmiennej zależnej – smak gorzki i posmak gorzki). Wartość statystyki F (68,82373 dla smaku gorzkiego i 71,73933 dla posmaku gorzkiego) została obliczona na podstawie średnich kwadratów odchyleń, wytłumaczonych i niewytłumaczonych ($F = (WSK/1)/(RSK/(n - 1))$). Podsumowując, analizowany model regresji wyjaśnia około 81% zmienności zmiennej zależnej (smak gorzki) i 82% zmiennej zależnej (posmak gorzki).

Tabela 20. Wyniki analizy wariancji (ANOVA) w regresji dla zależności smaku gorzkiego i całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego

Analiza wariancji; DV: Smak gorzki (analiza regresji smak gorzki)					
efekt	**suma kwadrat.**	***df***	**średnia kwadrat.**	***F***	**poziom p**
Regres.	40,05706*	1*	40,05706*	68,82373*	0,000000*
Reszta	9,31238	16	0,58202		
Razem	49,36944				

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

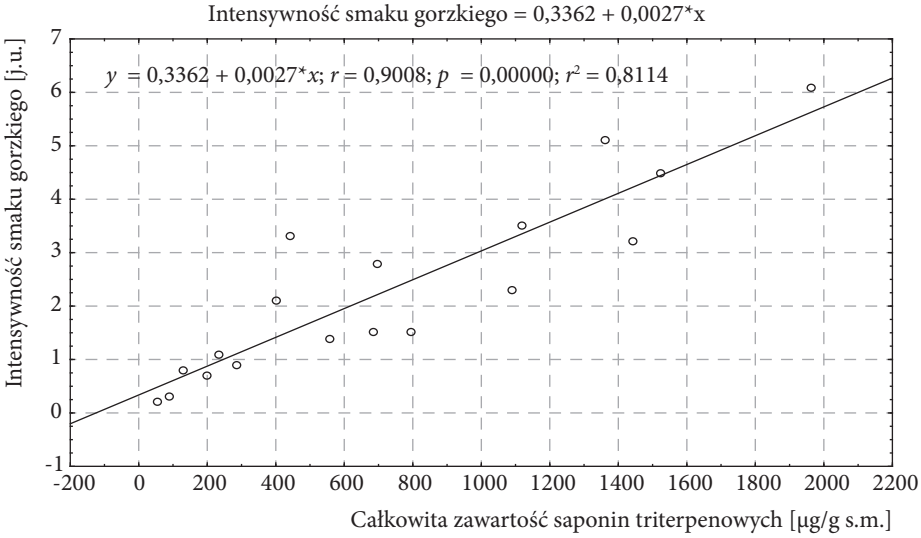
Analiza wariancji; DV: Posmak gorzki (analiza regresji posmak gorzki)					
efekt	**suma kwadrat.**	***df***	**średnia kwadrat.**	***F***	**poziom p**
Regres.	50,08146*	1*	50,08146*	71,73933*	0,000000*
Reszta	11,16965	16	0,69810		
Razem	61,25111				

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

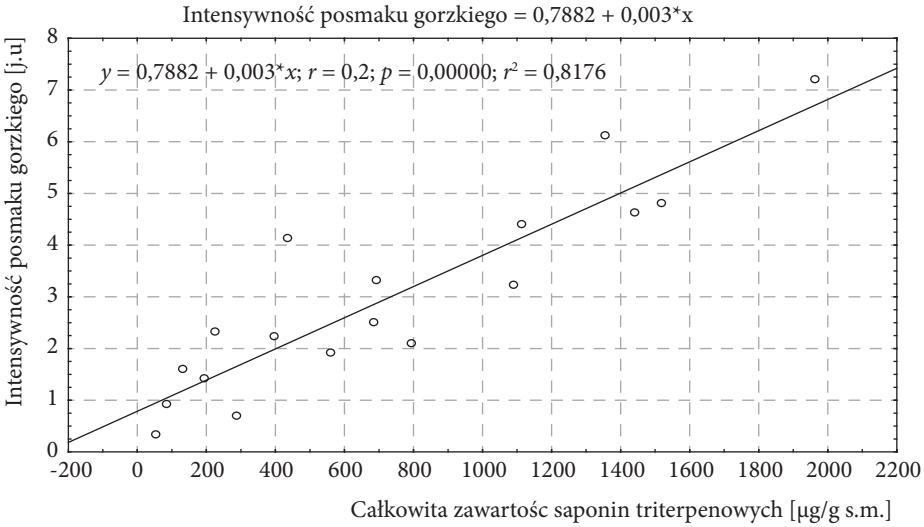
Źródło: Badania własne.

Wykresy linii regresji dla intensywności smaku lub posmaku gorzkiego względem całkowitej zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego wraz z wartością współczynnika determinacji dla smaku lub posmaku gorzkiego przedstawiono na rysunku 19A i B.

A. Wykres rozrzutu Intensywność smaku gorzkiego względem Całkowita zawartość saponin triterpenowych



B. Wykres rozrzutu Intensywność posmaku gorzkiego względem Całkowita zawartość saponin triterpenowych



Rysunek 19. Wykres linii regresji dla: intensywności smaku gorzkiego (A) oraz posmaku gorzkiego (B) względem całkowitej zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego i jego przetworach ogrzewanych i przechowywanych

Źródło: Badania własne.

5.4. Aktywność antyoksydacyjna wyizolowanych mieszanin saponin ze świeżego buraka oraz jego przetworów

Badania aktywności antyoksydacyjnej przeprowadzono dla wyizolowanych i oczyszczonych mieszanin saponin triterpenowych z różnych części korzeni trzech odmian buraka ćwikłowego: Bonel, Chrobry i Nochowski. Mieszaniny saponin wyizolowano osobno z miąższu i skór świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz przetworów ogrzewanych (100˚C/30min) i przechowywanych (6 miesięcy w temp. 4˚C, bez dostępu światła). Przetwory buraków ogrzewanych i przechowywanych zostały wyprodukowane w skali laboratoryjnej poprzez oddzielenie skór i miąższu, pokrojenie ich na wiórki i następnie pakowanie w słoiki szklane, ogrzewanie oraz przechowywanie. Metodyka przygotowania przetworów z różnych odmian buraka ćwikłowego ogrzewanych i przechowywanych przedstawiono w artykule (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016). Określono aktywność antyoksydacyjną metodą z kationorodnikiem ABTS (Re i in., 1999) ekstraktów (mieszanin) saponin wyizolowanych z różnych odmian korzeni buraka w przeliczeniu na zawartość saponin (μM Trolox/mg saponin). Różnice między poziomem aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów saponin z korzeni świeżych buraków i przetworów ogrzewanych oraz przechowywanych określono na podstawie dwuczynnikowej analizy wariancji, na poziomie istotności $\alpha = 0{,}05$. W celu określenia niepewności pomiaru TEAC wykreślono krzywe metodą najmniejszych kwadratów. Obliczenia wykonano w arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel.

Stwierdzono, że największą aktywność antyoksydacyjną wykazywały mieszaniny saponin wyizolowane ze świeżych korzeni odmian Chrobry (14,60 μM Trolox/mg saponin – ze skór oraz 12,53 μM Trolox/mg saponin – z miąższu) i Nochowski (13,32 μM Trolox/mg saponin – ze skór oraz 11,64 μM Trolox/mg saponin – z miąższu). Aktywność antyoksydacyjna mieszaniny saponin wyizolowanej ze skór (7,89 μM Trolox/mg saponin) i z miąższu (6,87 μM Trolox/mg saponin) odmiany Bonel była średnio o 43% niższa niż aktywność antyoksydacyjna mieszaniny saponin z odmian Chrobry i Nochowski (rysunek 20). Mieszaniny saponin, które zostały wyizolowane z przetworów ogrzewanych analizowanych odmian buraka ćwikłowego, wykazują istotnie niższą aktywność antyoksydacyjną od 18 do 28% w zależności od odmiany, w porównaniu do aktywności antyoksydacyjnej mieszanin saponin wyodrębnionych ze świeżych odmian buraka.

Aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowanych z przetworów ogrzewanych otrzymanych z miąższu i skór odmiany Chrobry wynosiła odpowiednio 10,28 i 11,66 μM Trolox/mg saponin i obniżyła się o 18 i 20% w porównaniu do aktywności antyoksydacyjnej mieszanin saponin z miąższu i skór świeżego surowca. Większe straty aktywności antyoksydacyjnej mieszanin saponin wyizolowanych

z przetworów ogrzewanych stwierdzono w przypadku odmiany Nochowski. Aktywność antyoksydacyjna saponin wyizolowanych z przetworów ogrzewanych tej odmiany otrzymanych z miąższu obiżyła się o 25%, a ze skór o 28%, wynosząc odpowiednio 8,68 i 9,55 μM Trolox/mg saponin. W trzeciej analizowanej odmianie, Bonel, aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowanych z przetworów ogrzewanych obniżyła się w o 20% (miąższ) i 18% (skóra), wynosząc odpowiednio 5,74 i 6,43 μM Trolox/mg saponin.

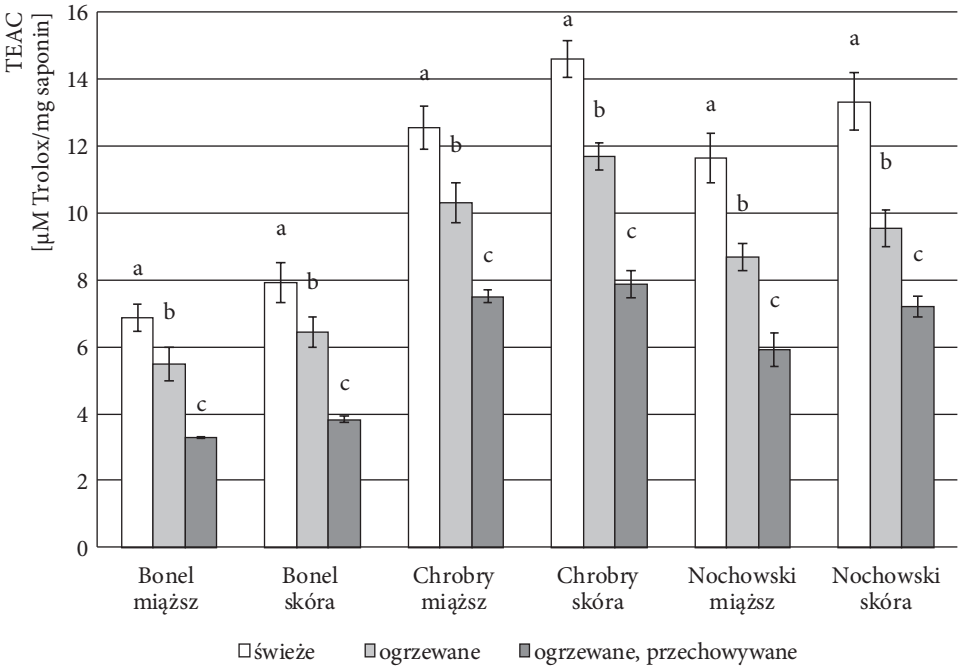
Podobnie jak proces ogrzewania, również przechowywanie przetworów z badanych odmian buraków powodowało istotne obniżenie aktywności antyoksydacyjnej wyizolowanych mieszanin saponin o 40–52%, w porównaniu do aktywności antyoksydacyjnej mieszanin saponin wyodrębnionych ze świeżych surowców analizowanych odmian. W przypadku przetworów buraka przechowywanych przez pół roku straty aktywnosći antyoksydacyjnej mieszanin saponin wyizolowanych z przetworów odmiany Chrobry otrzymanych z miąższu były najmniejsze i wynosiły 40%, a największe (52%) były w przypadku odmiany Bonel (miąższ i skóra). Aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowanych z przetworów przechowywanych otrzymanych z miąższu i skóry odmiany Chrobry wynosiła odpowiednio 7,49 i 7,87 μM Trolox/mg saponin. Straty aktywności antyoksydacyjnej saponin wyodrębnionych z przetworów przechowywanych tej odmiany wynosiły odpowiednio 40 i 46%, w porównaniu do aktywności antyoksydacyjnej saponin wyizolowanych z miąższu i skóry świeżego surowca. Straty aktywności antyoksydacyjnej saponin wyizolowanych z przetworów przechowywanych odmiany Nochowski wynosiły 49 i 45% (miąższ i skóra). Większe straty aktywności antyoksydacyjnej mieszanin saponin wyizolowanych z przetworów przechowywanych stwierdzono w przypadku odmiany Bonel (po 52% miąższ i skóra).

Badania te potwierdzają hipotezę, że saponiny triterpenowe są związkami wykazującymi działanie antyoksydacyjne. Saponiny triterpenowe jako antyoksydanty zwiększają wartość prozdrowotną produktów otrzymanych z tego surowca.

Podsumowując, saponiny triterpenowe jako naturalne metabolity wtórne buraka ćwikłowego ulegają częściowej degradacji w czasie działania podwyższonej temperatury oraz w czasie długotrwałego przechowywania przetworów z buraka ćwikłowego, w rezultacie dochodzi do obniżenia aktywności antyoksydacyjnej wyizolowanych mieszanin saponin z przetworów buraka ćwikłowego poddanych obróbce termicznej i przechowywaniu (rysunek 20).

Dane literaturowe nie opisują własciwości przeciwutleniających saponin triterpenowych buraka ćwikłowego, poza badaniami własnymi w publikacji Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski (2016), w której omówiono aktywność antyoksydacyjną ekstraktów saponin wyizolowanych z różnych odmian korzeni buraka w przeliczeniu na 1 gram suchej masy ekstraktów. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktów saponinowych otrzymanych z kilku odmian korzeni buraka

ćwikłowego była skorelowana z zawartością saponin w badanych korzeniach buraka w przeliczeniu na 1 gram suchej masy ekstraktów (Mikołajczyk-Bator i Czyżniejewski, 2016).



[a, b, c] Wartości średnie, w obrębie miąższu lub skóry danej odmiany, różnią się istotnie statystycznie w zależności od rodzaju analizowanego produktu (świeże buraki, przetwory ogrzewane i przechowywane) (test Tukeya, $p < 0,05$)

Rysunek 20. Aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowana z trzech odmian buraka ćwikłowego w zależności od części korzeni

Źródło: Badania własne.

Działanie antyoksydacyjne saponin jest związane z redukcją wolnych rodników tlenowych, które przyczyniają się do rozwoju wielu chorób. Z chemicznego punktu widzenia antyoksydanty wchodzą w interakcję z wolnymi rodnikami tlenowymi, niestabilnymi, wysoce reaktywnymi cząsteczkami tlenu (Bartosz, 2010).

Wolne rodniki tlenowe wykazują działanie destrukcyjne, poprzez utlenianie głównych składników komórki powodują uszkodzenie wielu struktur komórkowych, prowadząc do dysfunkcji komórek. W przypadku znacznego wzrostu rodników tlenowych w organizmie, przy braku sprawnie działających mechanizmów antyoksydacyjnych dochodzi do powstania stresu oksydacyjnego, który jest elementem składowym molekularnych mechanizmów wielu chorób (Czajka, 2006).

Wysoka zawartość saponin triterpenowych, podobnie jak barwników betalainowych i związków polifenolowych, w produktach spożywczych z buraka ćwikłowego

wpływa na polepszenie jakości zdrowotnej tych produktów, zapobiegając bezpośrednio rozwojowi wielu chorób cywilizacyjnych.

5.5. Model regresji liniowej związku między aktywnością antyoksydacyjną a zawartością saponin w buraku ćwikłowym

Modelem regresji liniowej opisano związek między aktywnością antyoksydacyjną wyizolowanych mieszanin saponin (jako zmienną zależną *Y*) i całkowitą zawartością saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego (jako zmienną niezależną oznaczoną przez *X*). Stwierdzono, że w analizowanym modelu pomiędzy aktywnością antyoksydacyjną saponin a całkowitą zawartością saponin w korzeniach buraka ćwikłowego zachodzi związek liniowy. Wyznaczono współczynnik determinacji (R^2) opisujący, jaka część ogólnej zmienności zmiennej zależnej (aktywności antyoksydacyjnej saponin) jest wyjaśniona przez regresję liniową.

W analizowanym modelu regresji przyjęto 18 obserwacji na jedną zmienną. Dla zmiennej zależnej obserwacjami były wartości aktywności antyoksydacyjnej saponin triterpenowych wyizolowanych ze świeżych buraków ćwikłowych (z sześciu prób: Bonel miąższ i skóra, Chrobry miąższ i skóra, Nochowski miąższ i skóra; sześć obserwacji) oraz ich przetworów ogrzewanych (z sześciu prób, opis jw.) i przechowywanych (również z sześciu prób, opis jw.). Dla zmiennej niezależnej obserwacjami były wartości całkowitej zawartości saponin triterpenowych oznaczone w świeżym surowcu (trzech odmian, osobno w skórze i miąższu, razem sześć obserwacji) i jego przetworach ogrzewanych oraz przechowywanych (po sześć obserwacji). Łącznie otrzymano 18 obserwacji. Wszystkie analizy zostały przeprowadzone dla świeżego buraka i jego produktów ogrzewanych oraz przechowywanych, otrzymanych z trzech odmian korzeni buraka: Bonel, Chrobry i Nochowski, osobno dla miąższu i skór.

Analizowano powiązanie między aktywnością antyoksydacyjną saponin a całkowitą ich zawartością w korzeniach buraka ćwikłowego dla 18 prób. Przedstawiono równanie regresji opisujące zależność zawartości saponin w buraku i ich aktywności antyoksydacyjnej.

W tabeli 21 przedstawiono wyniki analizy regresji dla zależności aktywności antyoksydacyjnej saponin względem całkowitej zawartości saponin w korzeniach buraka ćwikłowego. Zatem końcowy model przyjmuje postać (Stanisz, 2000):

$$\text{aktywność antyoksydacyjna saponin} = \underset{(0{,}000478)}{0{,}005337} \cdot \text{saponiny} + \underset{(0{,}436723)}{4{,}698780} \pm 1{,}1200.$$

Wartość błędu standardowego estymacji (S_e) wynosi 1,1200. Oznacza to, że przewidywane wartości zmiennej „aktywność antyoksydacyjna saponin" różnią się od wartości obserwowanych średnio o 1,1200.

Wartości błędu szacunku parametru wynoszą 0,436723 dla parametru b_0 oraz 0,000478 dla b_1. Oznacza to, że przy wartości współczynnika kierunkowego wynoszącej 0,005337 μM Trolox/mg saponin średnio można się pomylić o 0,000478, a przy wartości na poziomie 4,698780 dla wyrazu wolnego można pomylić się średnio o 0,436723.

Parametrem b_0 określa się wyraz wolny równania regresji, a b_1 to estymator współczynnika regresji liniowej, określający, o ile jednostek przeciętnie wzrośnie (lub zmaleje) wartość zmiennej zależnej (aktywność antyoksydacyjna saponin), jeśli wartość zmiennej niezależnej wzrośnie (całkowita zawartość saponin) o jedną jednostkę (Stanisz, 2000). W analizowanym przykładzie parametr b_1 wynosi 0,005337, oznacza to, że gdy wartość zmiennej saponiny (całkowita zawartość saponin) wzrośnie o jedną jednostkę (o 1 μg/ g s.m.), wówczas szacuje się, że aktywność antyoksydacyjna zwiększy się o 0,005337 μM Trolox/mg saponin.

Z analizy regresji analizowanego modelu wynika, że zmienna „całkowita zawartość saponin" ma istotny wpływ na zmienną „aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowanych ze świeżych korzeni buraka ćwikłowego i jego przetworów ogrzewanych i przechowywanych". W rozpatrywanym przykładzie regresja jest istotna (tabela 21). Ponadto wartości parametru b_0 i b_1 są istotne, gdyż dla współczynnika b_1 parametr t = 11,16086, p = 0,000000, zatem odrzucono hipotezę zerową (H_0) o braku wpływu zawartości saponin triterpenowych w buraku ćwikłowym na aktywność antyoksydacyjną wyizolowanych saponin, a w przypadku wyrazu wolnego b_0 parametr t = 10,75919 i p = 0,000000, stąd również odrzucono H_0. Iloraz t ($t = b_i/Sb_i$) charakteryzuje dokładność oszacowania i jednocześnie służy do sprawdzenia istotności parametrów badanego modelu (Stanisz, 2000).

Na podstawie przeprowadzonej analizy regresji stwierdzono liniową zależność aktywności antyoksydacyjnej od całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz w jego przetworach ogrzewanych i przechowywanych. Stwierdzono, że całkowita zawartość saponin triterpenowych w świeżych korzeniach buraka ćwikłowego oraz w ich przetworach ogrzewanych i przechowywanych ma istotny wpływ na aktywność antyoksydacyjną wyizolowanych saponin. Wyznaczona wartość współczynnika determinacji R^2 = 0,8861 dla aktywności antyoksydacyjnej saponin oznacza dobre powiązanie między zmiennymi „aktywność antyoksydacyjna saponin" i „całkowita zawartość saponin". Wartość współczynnika determinacji R^2 można wyrazić w procentach (88,6%). Z analizy regresji wynika, że przedstawiony model dla aktywności antyoksydacyjnej saponin wyjaśnia 88,6% zaobserwowanej zmienności.

Tabela 21. Wyniki analizy regresji dla zmiennej zależnej aktywność antyoksydacyjna saponin

N = 18	Podsumowanie regresji zmiennej zależnej: Aktywność antyoksydacyjna saponin (analiza regresji aktywność antyoksydacyjna) R= ,94136785 R^2 = ,88617343 Popraw. R2= ,87905927 F(1,16)=124,56 p<,00000 Błąd std. estymacji: 1,1200					
	*b**	bł. std. z *b**	*b*	bł. std. z *b*	*t*(16)	*p*
W. wolny			4,698780*	0,436723*	10,75919*	0,000000*
Całkowita zawartość saponin	0,941368*	0,084345*	0,005337*	0,000478*	11,16086*	0,000000*

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

Źródło: Badania własne.

Tabela 22. Wyniki analizy wariancji (ANOVA) w regresji dla zależności aktywności antyoksydacyjnej saponin i całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego

Analiza wariancji; DV: aktywność antyoksydacyjna saponin (analiza regresji aktywność antyoksydacyjna)					
regresja wielokrotna	suma kwadrat.	*df*	średnia kwadrat.	*F*	poziom p
Regres.	156,2579*	1*	156,2579*	124,5647*	0,000000*
Reszta	20,0709	16	1,2544		
Razem	176,3289				

* W programie Statistica wartości podświetlone na czerwono.

Źródło: Badania własne.

W tabeli 22 przedstawiono informacje o przeprowadzonej analizie służące weryfikacji badanego modelu. W analizie regresji wielokrotnej posłużono się testem *F* (Fishera-Snedecora) istotności wszystkich analizowanych parametrów. Za pomocą testu *F* weryfikowano jednocześnie trzy hipotezy zerowe: Ho: $b_1 = 0$ (istotność współczynnika kierunkowego); H_0: $R^2 = 0$ (istotność współczynnika determinacji R^2) oraz H_0: $b_1x + b_0 = 0$ (istotność liniowego związku pomiędzy badanymi zmiennymi). Odrzucono hipotezę zerową o braku istotności na poziomie $p = 0{,}000000$. Ze względu na dopasowanie linii prostej do badanych obserwacji całkowita suma kwadratów odchyleń (CSK) zmiennej zależnej od średniej (176,3289) została podzielona na sumę kwadratów (WSK) wyjaśnioną przez regresję (156,2579) i sumę kwadratów (RSK) niewytłumaczoną przez regresję (20,0709). Wartość statystyki *F* (124,5647) została obliczona na podstawie średnich kwadratów odchyleń wytłumaczonych i niewytłumaczonych ($F = (WSK/1)/\ (RSK/(n - 1))$). Podsumowując, analizowany model regresji wyjaśnia około 89% zmienności zmiennej zależnej.

5.6. Barwniki betalainowe a właściwości przeciwutleniające

Burak ćwikłowy jest cennym źródłem biologicznie czynnych związków, które wykazują szereg korzystnych dla organizmu właściwości, m.in. przeciwutleniających, przeciwzapalnych i przeciwnowotworowych. Do takich substancji w korzeniach buraka ćwikłowego zalicza sie barwniki betalainowe, związki polifenolowe (Kanner, Harel i Granit, 2001; Ravichandran i in., 2012; Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2018; Sawicki i Wiczkowski, 2018) i saponiny triterpenowe (Mikołajczyk-Bator, 2015).

Wymienione grupy związków są wtórnymi metabolitami występującymi w buraku ćwikłowym wykazującymi działanie antyoksydacyjne. Najlepiej opisaną w literaturze grupą metabolitów wtórnych buraka ćwikłowego o działaniu przeciwutleniającym są barwniki betalainowe. Wykazują one wysoką aktywność antyoksydacyjną, wyższą niż inne, naturalnie występujące antyoksydanty w surowcach roślinnych (Czapski i Górecka, 2014; Sawicki i Wiczkowski, 2018). Według Zitnanova i współpracowników (2006) antyoksydanty buraka ćwikłowego charakteryzują się wyższą aktywnością antyoksydacyjną niż antyoksydanty obecne w cebuli, czosnku, brukselce, porze, kapuście, ziemniakach i grochu. Poszczególne odmiany korzeni buraka ćwikłowego różnią się istotnie aktywnością przeciwutleniającą (Czapski i in., 2009).

Aktywność antyoksydacyjna soków z 11 odmian buraka ćwikłowego waha się od 13,3 ± 0,27 do 20,6 ± 0,21 μM Troloxu/ml. Buraki ćwikłowe należą do warzyw o bardzo wysokiej aktywności przeciwutleniającej, które są dobrze skorelowane z zawartością barwników betalainowych, jak wynika z opublikowanych badań autorki monografii (Czapski i in., 2009).

W literaturze niewiele jest informacji na temat porównania aktywności antyoksydacyjnej betaniny i wulgaksantyn, barwników typowych dla buraka ćwikłowego. Z badań własnych wynika, że obie grupy barwników (betacyjaniny i betaksantyny) wykazują aktywność antyoksydacyjną (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016). Spośród pięciu wyizolowanych betalain metodą preparatywną HPLC najwyższą aktywność antyoksydacyjną wykazywała neobetanina (około 2,5 razy wyższą niż aktywność antyoksydacyjna betaniny), następnie betanidyna, izobetanina, betanina i kwas betalamowy (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2018). Większość dostępnych danych dotyczy oceny aktywności antyoksydacyjnej ekstraktów z roślin bogatych w barwniki betalainowe lub oczyszczonych barwników, najczęściej na drodze chromatografii kolumnowej na żelach. Otrzymanie barwników w postaci czystej jest bardzo pracochłonne i trudne ze względu na ich dużą labilność. Gościnna i współpracownicy (2012) oraz Sawicki i współpracownicy (2016) wykazali występowanie wysokiego współczynnika korelacji pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a zawartością barwników fioletowych i żółtych w burakach ćwikłowych.

Według Escribano i współpracowników (1998) oraz Cai i współpracowników (2003) właściwości antyoksydacyjne mają obie grupy barwników betalainowych,

zarówno betacyjaniny, jak i betaksantyny, przy czym betanina ma wyższą aktywność przeciwutleniającą niż wulgaksantyna. Zespół naukowców Cai in. (2003) stwierdził, że aktywność przeciwutleniająca betalain zależy od ich struktury. Swoje wnioski oparł na wynikach oznaczeń dla betalain wyizolowanych z roślin rodziny *Amaranthaceae* oraz buraka ćwikłowego. W amarantowatych występują m.in. betacyjaniny, które są 5-O- i 6-O-glikozydami betaniny i *izo*-betaniny oraz mają zacylowane reszty cukrów. Również betaksantyny są odmienne w swojej budowie od znajdujących się w buraku ćwikłowym, a mianowicie zawierają pochodne *cyklo*-DOPA, tyraminę lub tryptofan, w których występują grupy fenolowe. Zdolność zmiatania wolnych rodników przez betaksantyny zwiększa się wraz ze wzrostem liczby grup hydroksylowych oraz grup iminowych. W betacyjaninach glikozydacja zmniejsza, a acylacja zwiększa aktywność przeciwutleniającą. W przypadku gdy grupa hyrdroksylowa jest w pozycji C5 aglikonu, obserwuje się znaczny wzrost aktywności przeciwutleniającej w porównaniu do pozycji C6.

Burak ćwikłowy jest spożywany głównie po jego przetworzeniu, w trakcie którego zmienia się struktura betalain oraz właściwości przeciwutleniające tego surowca. Podczas ogrzewania betanina może ulegać degradacji w wyniku izomeryzacji, dekarboksylacji czy dehydrogenacji (Herbach, Stintzing i Carle, 2004).

Zastosowanie procesów technologicznych, w tym obróbki termicznej, może w różny sposób wpływać na jakość żywności pochodzenia roślinnego. Jest to związane głównie z częściową degradacją naturalnych substancji znajdujących się w warzywach. Przykładowo, proces ogrzewania ma istotny wpływ na obniżenie zawartości barwników fioletowych i żółtych w rozdzielonych frakcjach otrzymanych z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego, przy czym większe straty barwników stwierdzono we frakcjach zawierających barwniki żółte (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016). Podobnie stosowanie minimalnego przetwarzania buraków ćwikłowych wpływa na obniżenie zawartości związków bioaktywnych tego surowca, tj. barwników betalainowych i związków polifenolowych (Preczenhak i in., 2018).

Z badań własnych wynika, że ogrzewanie w 90˚C przez 30 minut rozdzielonych frakcji barwników fioletowych i żółtych buraka ćwikłowego w niewielkim stopniu powoduje obniżenie aktywności antyoksydacyjnej obu grup rozdzielonych barwników. Po ogrzewaniu frakcji barwników betalainowych stwierdzono niewielki rozpad barwników, a aktywność antyoksydacyjna tych frakcji nie uległa dużym zmianom. Przy stratach betacyjanin na poziomie 15% aktywność antyoksydacyjna obniżyła się tylko o około 7%. Analiza HPLC/MS wykazała, że dominującym barwnikiem we frakcji betacyjanin przed ogrzewaniem była betanina, a po ogrzewaniu dodatkowo 15-dekarboksy-betanina. Wyizolowane frakcje barwników żółtych buraka są trzykrotnie mniej odporne na ogrzewanie niż frakcje betacyjanin. Pomimo dużych strat barwników żółtych, dochodzących do 47%, w czasie ogrzewania aktywność antyoksydacyjna uległa niewielkiemu obniżeniu, o około 5%. We frakcjach

barwników żółtych dominującym pikiem na chromatogramie HPLC była neobetanina, a wulgaksantyna I stanowiła znacznie mniejszą powierzchnię, natomiast po ogrzewaniu zidentyfikowano dodatkowo 2-dekarboksy-2,3-dehydro-neobetaninę (Mikołajczyk-Bator i Pawlak, 2016). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że obie grupy barwników betalainowych wykazują aktywność antyoksydacyjną na podobnym poziomie, a produkty ich rozpadu powstające w czasie ogrzewania wykazują różną aktywność antyoksydacyjną.

Nemzer i współpracownicy (2011) zidentyfikowali w buraku ćwikłowym, oprócz neobetaniny, również 17-dekarboksy-neobetaninę, 2,17-bidekarboksy-neobetaninę i 2-dekarboksy-2,3-dehydro-neobetaninę z maksimum pochłaniania światła w zakresie 420–464 nm, jako produkty rozpadu powstające w czasie ogrzewania. Oprócz tych produktów rozpadu w czasie ogrzewania mogą powstać z betaniny związki dekarboksylowane, takie jak np. 17-dekarboksy-betanina, 17-dekarboksy-izobetanina, 2-dekarboksy-betanina, 2-dekarboksy-izobetanina o barwie fioletowej (Nemzer i in., 2011). Identyfikację 22 barwników betalainowych w buraku ćwikłowym poddanym ogrzewaniu lub fermentacji szczegółowo omawiają Sawicki i Wiczkowski, (2018). Autorzy ci w badanych produktach zidentyfikowali, oprócz betaniny i jej C15 epimeru izobetaniny, ich aglikony (betanidynę i izobetaninę), pochodne dekarboksylowane betaniny (17-dekarboksy-betaninę, 2-dekarboksy-betaninę, 2,17-bidekarboksy-betaninę/izobetaninę). Pochodne dekarboksylowane betaniny i izobetaniny zidentyfikowali również w korzeniach buraka ćwikłowego Sawicki i współpracownicy (2016) oraz Slatnar, Stampar, Vebaric i Jakopic (2015).

Wielu autorów wskazuje na wysoką aktywność antyoksydacyjną buraka ćwikłowego oraz jego działanie prozdrowotne (Klewicka i in., 2012; Krajka-Kuźniak i in., 2013). Burak ćwikłowy jest ważnym źródłem naturalnych antyoksydantów w diecie, takich jak barwniki betalainowe, saponiny triterpenowe oraz związki polifenolowe, dzięki którym produkty świeże lub ogrzewane buraka ćwikłowego wykazują aktywność antyoksydacyjną (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017b). Oprócz wymienionych antyoksydantów surowiec ten jest istotnym źródłem azotanów NO_3^- w diecie, które pośredniczą w powstawaniu tlenku azotu NO (Baiao i in., 2017), wspomagającego funkcjonowanie układu sercowo-naczyniowego (Lundberg i in., 2009). Badania zespołu: Bahadoran, Mirmiran, Kabir, Azizi i Ghasemi (2017) wskazują, że spożywanie soku z buraka ćwikłowego wpływa na obniżenie ciśnienia krwi. Zagadnienia te zostały szerzej omówione w rozdziale 2 pkt 2.3. Wiadomo, że bogatym i jednocześnie jedynym jak dotąd źródłem pozyskiwania barwników betalainowych dla przemysłu spożywczego jest burak ćwikłowy. Surowiec ten wykorzystuje się do wyrobu koncentratów barszczu oraz jako preparat barwiący, używany do barwienia produktów słabo kwaśnych i obojętnych, np. w przemyśle mleczarskim jako dodatek do produktów mleczarskich (jogurty), dodatek do produktów cukierniczych (konfitury, dżemy) oraz wyrobów wędliniarskich (Georgiev i in., 2010). W przemyśle owocowo-warzywnym wykorzystuje się buraka ćwikłowego do produkcji ćwikły,

konserw, mrożonek, zup, soków pitnych, suszów oraz czipsów. Czipsy buraczane (ang. *crispy natural*) są innowacyjnym produktem prozdrowotnym wprowadzonym od kilku lat na polski rynek. Produkcja czipsów odbywa się z zastowaniem suszenia metodą próżniowo-mikrofalową, wywołującą efekt „rozdmuchiwania" (puffingu). Opis poszczególnych etapów technologicznych produkcji czipsów buraczanych oraz wpływ poszczególnych zabiegów technologicznych na zmiany aktywności antyoksydacyjnej buraka opisano w artykule Mikołajczyk-Bator i Czapskiego (2017b). Czipsy z buraka ćwikłowego są produktem o wysokich właściwościach prozdrowotnych, charakteryzują się wysoką aktywnością antyoksydacyjną rzędu 100 μM Troloxu/g produktu (Mikołajczyk-Bator i Czapski, 2017b). Tak wysoka aktywność antyoksydacyjna jest wynikiem zwiększenia stężenia barwników betalainowych (wskutek odwodnienia) oraz powstania związków antyoksydacyjnych z barwników w czasie obróbki termicznej.

Produkty otrzymywane z warzyw i owoców charakteryzujące się dużą wartością prozdrowotną otrzymuje się dzięki (Czapski i Górecka, 2014):

- dobraniu surowca wykazującego dużą zawartość związków bioaktywnych,
- dobraniu właściwych warunków przetwarzania i utrwalania mających na celu zminimalizowanie strat związków bioaktywnych oraz zwiększenie ich biodostępności,
- dodaniu substancji bioaktywnych w czasie przetwarzania.

Z badań własnych wynika, że zarówno barwniki betalainowe, jak i saponiny triterpenowe są związkami ulegającymi częściowej degradacji w czasie procesów związanych z działaniem wysokiej temperatury i przechowywaniem (rozdział 4 pkt 4.3). Ze względu na powszechność stosowania obróbki termicznej w trakcie przetwarzania surowca na gotowe produkty spożywcze należy zastosować odpowiednie kryteria doboru surowca (które ujęto w podsumowaniu niniejszej pracy), aby uzyskać końcowy produkt o wysokich walorach sensorycznych i prozdrowotnych.

PODSUMOWANIE

Zmiany w modelu konsumpcji żywności w ostatniej dekadzie nastąpiły głównie pod wpływem nowo ukształtowanych preferencji konsumentów, a także działań promujących zdrowy styl życia. Wysoka jakość produktów spożywczych staje się odpowiedzią na potrzeby konsumentów, którzy w obecnych czasach szczególną uwagę zwracają na cechy prozdrowotne i sensoryczne nabywanych produktów spożywczych. Stanowi to wyzwanie dla producentów żywności, technologów żywności, towaroznawców i producentów warzyw, owoców i innych roślin w przypadku produkcji towarów pochodzenia roślinnego.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań przedstawiono znaczenie saponin triterpenowych w kształtowaniu jakości sensorycznej i zdrowotnej surowca oraz jego produktów – soków i przetworów buraka ćwikłowego. Zidentyfikowano rodzaj związków powodujących smak gorzki korzeni buraka ćwikłowego oraz określono zmiany zawartości i jakości tych związków w przetworach ogrzewanych oraz przechowywanych. Określono wpływ saponin na odczucie smaku gorzkiego buraka ćwikłowego i jego przetworów.

Jakość sensoryczna i zdrowotna produktów spożywczych jest determinowana głównie jakością surowca, z którego jest produkowany towar, ale nie mniej istotny jest zastosowany proces technologiczny, czyli sposób przetwarzania surowca na gotowy produkt spożywczy. Zarówno obróbka termiczna, jak i długotrwałe przechowywanie finalnego produktu przed spożyciem powodują zmiany zawartości związków bioaktywnych decydujących o jakości sensorycznej i właściwościach prozdrowotnych produktów spożywczych.

W celu identyfikacji grupy naturalnych związków obecnych w buraku ćwikłowym wpływających na smak gorzki zastosowano dwie metody chromatograficzne z wykorzystaniem niskorozdzielczego i wysokorozdzielczego spektrometru mas (HPLC/ESI-IT-MS i UPLC/HESI-Q-Orbitrap-MS), dzięki którym możliwe było uzyskanie kompletu analiz potwierdzających wstępną identyfikację 49 saponin triterpenowych, w tym aż 10 grup izomerów, w korzeniach buraka ćwikłowego i jego przetworach. Dodatkowo przy analizie chromatograficznej niezbędne było przygotowanie wyodrębnionych ekstraktów saponin (w łącznej liczbie 20) poprzez opracowanie metody ich oczyszczania z innych składników występujących w ekstrakcie. Ekstrakty saponinowe w analizach identyfikacyjnych stwarzają znaczne

utrudnienie z tego powodu, że są związkami pozbawionymi chromoforów (podwójnych wiązań sprzężonych), a w efekcie właściwej rejestracji profili chromatograficznych, których dokonuje się w zakresie ultrafioletu, a więc w przedziale, w którym absorbuje wiele substancji chemicznych. Rozwiązaniem problemu było zastosowanie ekstrakcji do fazy stałej (ang. *solid phase extraction*, SPE) i frakcjonowanie ekstraktu saponin w tej fazie celem oczyszczenia ekstraktów saponinowych i właściwego przygotowania prób do dalszych, zaawansowanych metod identyfikacji opartych na spektrometrii mas.

Badania wskazują, że wśród różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego występuje duża różnorodność i zmienność związków bioaktywnych. Wykorzystanie najnowszych i zaawansowanych technik chromatografii cieczowej i metod opartych na spektrometrii mas pozwoliło na poznanie i zidentyfikowanie naturalnych substancji bioaktywnych występujących w buraku ćwikłowym. Kompleksowa analiza związków bioaktywnych w surowcach roślinnych prowadzi do wykorzystania najcenniejszych surowców pod względem jakości sensorycznej i właściwości prozdrowotnych do otrzymania wysokiej jakości produktów spożywczych.

Wykazano, że najbardziej gorzkie odmiany buraka ćwikłowego (Chrobry, Nochowski) charakteryzują się największą zawartością saponin, a odmiany o niewyczuwalnym smaku gorzkim (Bonel, Forono) zawierają najmniej saponin. W toku tych badań potwierdzono hipotezę, że smak gorzki buraka ćwikłowego wynika z obecności saponin i jest cechą odmianową tego surowca.

Zmiany naturalnych substancji buraka ćwikłowego w czasie obróbki termicznej i przechowywania przetworów, które wpływają na kształtowanie cech jakościowych finalnego produktu, zostały omówione na przykładzie różnych odmian surowca i jego produktów, tj. soków i przetworów otrzymanych w skali laboratoryjnej.

Określono, jakim zmianom składu jakościowego i ilościowej zawartości ulegają saponiny triterpenowe w buraku ćwikłowym oraz w przetworach ogrzewanych i przechowywanych. Saponiny są obecne w surowcu w różnych stężeniach, w zależności od odmiany i części buraka ćwikłowego.

Saponiny triterpenowe, jako związki gorzkie o właściwościach antyoksydacyjnych wyizolowane z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego, ulegają częściowej degradacji w czasie obróbki termicznej surowca niezbędnej w celu otrzymania przetworów z buraka. Warzywo to jest spożywane głównie po przetworzeniu. Obróbka technologiczna buraka ćwikłowego niemal zawsze wiąże się z zastosowaniem podwyższonej temperatury w takich procesach, jak pasteryzacja, ogrzewanie, blanszowanie, pieczenie, smażenie, w czasie których związki naturalne – saponiny triterpenowe – ulegają częściowej degradacji. Z przeprowadzonych badań wynika, że w przetworach buraka ćwikłowego poddanych procesowi ogrzewania straty zawartości saponin triterpenowych wynoszą od 19 do 26% w zależności od odmiany, z której został wyprodukowany końcowy produkt spożywczy, natomiast średnie straty zawartości saponin w czasie półrocznego przechowywania produktów

finalnych z buraka ćwikłowego wynoszą od 43 do 53%. Jednocześnie zmienia się smak tych przetworów. Następuje istotny spadek odczuwania smaku gorzkiego wraz z obniżeniem zawartości saponin w czasie ogrzewania lub przechowywania końcowych produktów.

Smak gotowych produktów z buraka ćwikłowego został określony na podstawie przeprowadzonych ocen sensorycznych przetworów przygotowanych w skali laboratoryjnej. Przetworami były tarte buraki ćwikłowe ogrzewane w temperaturze 100°C przez 30 minut oraz tarte buraki ćwikłowe ogrzewane (100°C/30min) i przechowywane przez sześć miesięcy w temperaturze 4°C. Produktami otrzymanymi z różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego były soki uzyskane również w skali laboratoryjnej z tych samych odmian buraków ćwikłowych, z których otrzymano przetwory. Z doświadczeń wynika, że smak gorzki jest najsilniej wyczuwany w świeżych burakach ćwikłowych oraz w produktach z buraka, które nie są poddane obróbce termicznej, np. w sokach buraczanych niepasteryzowanych, jednodniowych. Smak ten jest wyczuwany w różnym stopniu w zależności od analizowanej odmiany i części surowca. O natężeniu odczuwania smaku gorzkiego w produktach świeżych otrzymanych z buraka ćwikłowego decyduje odmiana surowca, z której został ten produkt wyprodukowany. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że proces ogrzewania buraka ćwikłowego i soków oraz przechowywanie tych produktów nie prowadzi do nasilenia się smaku gorzkiego.

W toku powyższych badań potwierdzono hipotezę, że obróbka termiczna surowca i długotrwałe przechowywanie gotowych produktów powoduje zmiany smaku wynikające z częściowej degradacji saponin.

Na podstawie przeprowadzonych ocen sensorycznych różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego i ich części, z jednoczesnym określeniem ilościowej zawartości saponin w analizowanych odmianach buraka, dokonano klasyfikacji odmian korzeni na gorzkie i niewykazujące smaku gorzkiego.

Do odmian niewykazujących smaku gorzkiego, z dominującą cechą smaku słodkiego zaliczono odmiany: Bonel, Rywal, Opolski i Wodan i Forono. Słodkość tych odmian dominowała w miąższu korzeni buraka, a więc w najbardziej użytkowej części surowca dla przemysłu przetwórczego. Z kolei odmiany buraka ćwikłowego z dominującym deskryptorem smaku gorzkiego to Nochowski, Chrobry, Noe 21, Tytus i Modana. Zawartość saponin w badanych korzeniach buraków ćwikłowych jest dobrze skorelowana z intensywnością cech goryczkowych.

Celem określenia roli saponin w kształtowaniu smaku buraka ćwikłowego i jego przetworów przeprowadzono oceny sensoryczne mieszanin saponin wyizolowanych z surowca oraz z gotowych przetworów ogrzewanych i przechowywanych, otrzymanych w skali laboratoryjnej. Wyznaczono progi rozpoznania smaku gorzkiego ekstraktów saponin wyizolowanych z miąższu i skór trzech odmian (Bonel, Chrobry, Nochowski) i porównano je do wzorca smaku gorzkiego – kofeiny – oraz zaproponowanego nowego wzorca dla saponin z buraka – sojasaponiny I. Wyznaczone

progi rozpoznania smaku gorzkiego ekstraktów saponin powodowały odczucie smaku gorzkiego porównywalne do 0,25 g/l wodnego roztworu kofeiny oraz 0,099 g/l sojasaponiny I.

Przeprowadzona w niniejszej pracy analiza jakościowa saponin i oznaczanie ilościowej ich zawartości w różnych odmianach buraka z jednoczesną analizą sensoryczną surowca i jego produktów ma duże znaczenie z punktu widzenia oceny towaroznawczej poszczególnych odmian korzeni buraka i ich przeznaczenia na konkretne produkty spożywcze i przetwory.

W celu otrzymania produktu o wysokiej jakości sensorycznej i właściwościach prozdrowotnych należy przede wszystkim określić zawartość substancji naturalnych w surowcu, które wpływają na smak i właściwości prozdrowotne otrzymywanego produktu.

Gotowe produkty ze świeżego buraka ćwikłowego odmiany Bonel czy Forono, np. sok buraczany świeżo tłoczony (jednodniowy), świeże buraki ćwikłowe w postaci wiórków dodawane do świeżych mieszanek warzywnych czy też buraki o minimalnym stopniu przetworzenia, będą się charakteryzowały wyższymi walorami smakowymi, wynikającymi z niewyczuwalnego smaku gorzkiego przez konsumentów, z powodu niskiej zawartości saponin w korzeniach tych odmian. W takich produktach jakość sensoryczna jest bardzo ważną cechą surowca decydującą o wzroście popytu na nie. W celu otrzymania soku świeżo tłoczonego niepasteryzowanego oraz gotowego produktu spożywczego zawierającego świeże buraki ćwikłowe, jak również produktu o minimalnym stopniu przetworzenia o pożądanych przez konsumentów cechach sensorycznych, zaleca się stosowanie odmian buraka ćwikłowego o niewyczuwalnym smaku gorzkim, np. odmianę Bonel lub Forono. Odmiany te charakteryzują się dominującym smakiem słodkim i najniższą zawartością saponin triterpenowych w miąższach (Bonel – 131,4 μg/g s.m., Forono – 171,2 μg/g s.m.), w porównaniu do odmian o smaku gorzkim i wysokiej zawartości saponin Chrobry – 1524,9 μg/g s.m. i Nochowski – 1116,8 μg/g s.m.).

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że takie odmiany jak Chrobry czy Nochowski w mniejszym stopniu nadają się do produkcji soków jednodniowych, niepasteryzowanych, z uwagi na niekorzystne, dominujące cechy goryczkowe, ale mogą być przydatne do produkcji wszelkich przetworów pasteryzowanych i ogrzewanych w wysokiej temperaturze oraz przechowywanych, ponieważ proces pasteryzacji czy ogrzewania oraz przechowywanie powodują istotne zmniejszenie odczuwania smaku gorzkiego tych produktów. W toku powyższych badań wskazano potencjał aplikacyjny różnych odmian buraka ćwikłowego pod względem ich przydatności do wyrobu produktów spożywczych o wysokich walorach sensorycznych.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na działanie antyoksydacyjne saponin triterpenowych wyizolowanych z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego. Saponiny triterpenowe, jako naturalne metabolity wtórne buraka ćwikłowego,

ulegają częściowej degradacji w czasie działania podwyższonej temperatury oraz w czasie długotrwałego przechowywania przetworów z buraka ćwikłowego, co powoduje obniżenie aktywności antyoksydacyjnej (od 18 do 28% – w zależności od odmiany – saponin wyizolowanych z przetworów buraka ćwikłowego poddanych obróbce termicznej oraz od 40 do 52% – w zależności od odmiany – saponin wyizolowanych z przetworów przechowywanych). Autorka wykazała, że aktywność antyoksydacyjna saponin jest istotnie skorelowana z ich zawartością w korzeniach buraka ćwikłowego.

W literaturze fachowej twierdzi się, że aktywność antyoksydacyjna buraka ćwikłowego i jego produktów wynika z zawartości w tym surowcu barwników betalainowych i (lub) związków polifenolowych. Przeprowadzone badania wykazały, że do tej grupy antyoksydantów można zaliczyć saponiny triterpenowe wyizolowane z buraka ćwikłowego.

W świetle tych badań należy przy określaniu potencjału antyoksydacyjnego buraka ćwikłowego rozpatrywać nie tylko wpływ zawartych w nim barwników i związków polifenolowych, ale również saponin triterpenowych. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań oraz studiów literaturowych potwierdzono hipotezę, że saponiny triterpenowe są związkami bioaktywnymi wykazującymi działanie antyoksydacyjne, które obok betalain i związków polifenowych obecnych w buraku ćwikłowym stanowią o właściwościach prozdrowotnych surowca i jego przetworów.

Z badań własnych wynika, że zarówno barwniki betalainowe, jak i saponiny triterpenowe są związkami ulegającymi częściowej degradacji w trakcie procesów związanych z działaniem wysokiej temperatury i przechowywaniem. Ze względu na powszechność stosowania obróbki termicznej w czasie przetwarzania surowca na gotowe produkty spożywcze należy zastosować odpowiednie kryteria doboru surowca, aby uzyskać końcowy produkt spożywczy o najwyższej jakości zdrowotnej i sensorycznej.

Na podstawie przeprowadzonych badań składu jakościowego buraka ćwikłowego oraz wpływu procesów technologicznych na cechy sensoryczne gotowych produktów z buraka **wyznaczono kryteria doboru surowców w celu otrzymania produktu spożywczego o wysokiej jakości sensorycznej i zdrowotnej:**

- odpowiedni poziom zawartości w surowcu metabolitów wtórnych, głównie saponin triterpenowych, które wpływają na smak i właściwości przeciwutleniające końcowego produktu;
- wysoki poziom zawartości barwników betalainowych wpływających na właściwości prozdrowotne i wygląd końcowego produktu (straty barwników betalainowych w czasie działania podwyższonej temperatury wpływają na zmianę barwy).

Czynnikiem mającym istotny wpływ na jakość końcowego produktu są warunki przetwarzania surowca (temperatura, czas trwania obróbki) oraz warunki przechowywania finalnego produktu spożywczego. W ostatnim przypadku istotne

znaczenie ma czas przechowywania (długość okresu przechowywania produktu przed spożyciem) i temperatura przechowywania.

Do przydatnych wskazówek dla technologów żywności, towaroznawców i producentów żywności, które wynikają z przeprowadzonych badań, można przyjąć klasyfikację korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego na gorzkie i niewykazujące smaku gorzkiego, które ujęto w rozdziale 3 pkt 3.2 niniejszej monografii.

Największy wpływ przedstawionych wyników badań na rozwój naukowy w dyscyplinie towaroznawstwo polega na określeniu znaczenia saponin jako związków naturalnych buraka ćwikłowego w kształtowaniu jakości sensorycznej i właściwości prozdrowotnych produktów spożywczych otrzymanych z różnych odmian surowca.

Wiedza na temat zmian zawartości saponin triterpenowych w czasie procesów technologicznych z zastosowaniem podwyższonej temperatury (ogrzewanie, pasteryzacja, blanszowanie) pozwoli na odpowiedni dobór surowca i warunków jego przetwarzania w celu osiągnięcia lepszej jakości finalnego produktu.

W wyniku przeprowadzonych analiz oraz podjętych studiów literaturowych możliwe jest zaprojektowanie końcowego produktu spożywczego z buraka ćwikłowego o wysokich walorach sensorycznych i prozdrowotnych poprzez dobór odpowiedniego surowca. Powinien on uwzględniać poziom zawartości saponin triterpenowych powodujących smak gorzki i jednocześnie będących związkami antyoksydacyjnymi.

Rezultaty badań mogą dostarczyć producentom żywności istotnej wiedzy dotyczącej możliwości doboru odmiany buraka do rodzaju otrzymywanego produktu, co może się przyczynić do rozwoju przemysłu rolno-spożywczego.

BIBLIOGRAFIA

Acree, T. E., Lee, C. Y., Butts, R. M. i Barnard, J. (1975). Geosmin, the earthy component of table beet odor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 24*(2), 430–431. doi: 10.1021/jf60204a059

Allegra, M., Furtmüller, P. G., Jantschko, W., Zederbauer, M., Tesoriere, L., Livrea, ... Obinger, C. (2005). Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorus acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 332*(3), 837–844.

ARR Agencja Rynku Rolnego. (2015a). *Rynek Owoców i Warzyw. Biuletyn Informacyjny, 3*.

ARR Agencja Rynku Rolnego. (2015b). *Rynek warzyw w Polsce*.

ARR Agencja Rynku Rolnego. (2017). *Biuletyn Informacyjny. Trendy Narzędzia Kierunki, 1*.

Atamanova, A., Brezhneva, T. A., Slivkin, A. I., Nikolaevskii, V. A., Selemenev, V. F. i Mironenko, N. V. (2005). Isolation of saponins from table beetroot and primary evaluation of their pharmacological activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal, 39*(12), 650–652.

Atopkina, L. N., Malinovskaya, G. V., Elyakov, G. B., Uvarova, N. I., Woerdenbag, H. J., Koulman, A., ... Potier, P. (1999). Cytotoxicity of natural ginseng glycosides and semi-synthetic analogues. *Planta Medica, 65*(1), 30–34.

Baer-Dubowska, W., Gackowski, D. i Różalski, R. (2007). Wpływ wolnych rodników na inicjację i rozwój nowotworów. W: W. Grajek (red.), *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Kabir, A., Azizi, F. i Ghasemi, A. (2017). The nitrate-independent blood pressure-lowering effect of beetroot juice: a systematic review and meta-analysis. *Advances in Nutrition, 8*(6), 830–838.

Baiao, D. S., Silva, D. V. T., Aguila, E. M. D. i Paschoalin, V. M. F. (2017). Nutritional, bioactive and physicochemical characteristics of different beetroot formulations. *Food Additives*, rozdział 2, 21–43. Wydawnictwo IntechOpen Open Science Open Minds. Pobrane z http://www.intechopen.com/books/food-additives

Balandrin, M. F., Kinghorn, A. D. i Farnsworth, N. R. (1993). Plant-derived natural products in drug discovery and development. W: A. D. Kinghorn i M. F. Balandrin (Eds.), *Human medicinal agents from plants. ACS Symposium Series 534* (s. 2–12). Washington D.C: American Chemical Society.

Bartosz, G. (2010). *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

Baryłko-Pikielna, N. i Matuszewska, I. (2009). *Sensoryczne badanie żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania.* Kraków: Wydawnictwo Naukowe PTTŻ.

Behrens, M. i Meyerhof, W. (2013). Bitter taste receptor research comes of age: from characterization to modulation of TAS2Rs. *Seminars in Cell and Developmental Biology, 24*(3), 215–221.

Belhadj Slimen, I., Najar, T. i Abderrabba, M. (2017). Chemical and antioxidant properties of betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(4), 675–689. doi: 10.1021/acs.jafc.6b04208. Epub 2017 Jan 18.

Biarnés, X., Marchiori, A., Giorgetti, A., Lanzara, C., Gasparini, P., Carloni, ... Meyerhof, W. (2010). Insights into the binding of phenyltiocarbamide (PTC) agonist to its target human TAS2R38 bitter receptor. PubMed Central. *PLOS ONE, 5*(8), e12394.

Biegańska-Marecik, R., Czapski, J. i Błaszczyk, P. (2007). Określenie wpływu odmiany i procesu technologicznego na występowanie smaku gorzkiego w buraku ćwikłowym. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 3*(52), 62–70.

Bonaccorsi, I., Altieri, F., Sciamanna, I., Oricchio, E., Grillo, C., Giuseppe Contartese, G. i Galati, E. M. (2008). Endogenous reverse transcriptase as a mediator of ursolic acid's anti-proliferative and differentiating effects in human cancer cell lines. *Cancer Letters, 263*, 130–139.

Bondonno, C. P., Blekkenhorst, L. C., Liu, A. H., Bondonno, N. P., Ward, N. C., Croft, K. D. i Hodgson, J. M. (2018). Vegetable-derived bioactive nitrate and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine, 61*, 83–91.

Bryan, N. S. i van Grinsven, H. (2013). The role of nitrate in human health. *Advances in Agronomy, 119*, 153-182.

Bryan, N. S. i Ivy, J. L. (2015). Inorganic nitrite and nitrate: Evidence to support consideration as dietary nutrients. *Nutrition Research, 35*(8), 643–654.

Brzozowski P. i Zmarlicki, K. (red.). (2016). *Uwarunkowania w produkcji papryki, ogórków gruntowych i buraków ćwikłowych.* Skierniewice: Instytut Ogrodnictwa, Dział Wspomagania Badań. Sekcja Statystyczno-Ekonomiczna.

Cai, Y., Sun, M. i Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(8), 2288–2294.

Cheong, D. H. J., Arfuso, F., Sethi, G., Wang, L., Hui, K. M., Kumar, A. P. i Tran, T. (2018). *Molecular targets and anti-cancer potential of escin. Cancer Letters.* doi: 10.1016/j.canlet.2018.02.027.

Chitisankul, W. T., Takada, Y., Takahashi, Y., Ito, A., Itabashi, M., Varanyanond, ... Tsukamoto, C. (2018). Saponin composition complexities in hypocotyls and cotyledons of nine soybean varieties. *LWT – Food Science and Technology, 89*, 93–103.

Chotkowski, J. (2007). *Marketingowe podstawy rozwoju rynku nasion rolniczych. Monografie i Rozprawy Naukowe IHAR, 26.* Radzików k.Warszaway: Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin.

Clifford, T., Howatson, G., West, D. J. i Stevenson, E. J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients, 7*(4), 2801–2822.

Correia, D. (2011). *Le goût moisi-terreux du vin: contribution à la caractérisation cinétique et métabolique des moisissures associées à ce défaut organoleptique. Alimentation et Nutrition.* Université de Bourgogne, Français.<NNT : 2011DIJOS012> (Thèse de doctorat en Sciences de l'alimentation).

Costa, A. P. D., Hermes, V. S, Rios, A. O. i Flôres, S. H. (2017). Minimally processed beetroot waste as an alternative source to obtain functional ingredients. *Journal of Food Science and Technology, 54*(7), 2050–2058.

Cuéllar, M. J., Giner, R. M., Recio, M. C., Just, M. J., Máñez, S., Cerdá, M., ... Ríos, J. L. (1997). Zanhasaponins A and B, antiphospholipase A_2 saponins from an antiinflammatory extract of *Zanha africana* root bark. *Journal of Natural Products, 60*(11), 1158–1160.

Czajka, A. (2006). Wolne rodniki tlenowe a mechanizmy obronne organizmu. *Nowiny Lekarskie, 75*(6), 582–586.

Czapski, J. (1999). Opakowanie a jakość produktów spożywczych. *Opakowanie, 44*(10), 14–17.

Czapski, J. i Górecka, D. (red.). (2014). *Żywność prozdrowotna – składniki i technologia*. Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Czapski, J., Mikołajczyk, K. i Kaczmarek, M. (2009). Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of betalain pigments. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 59*(2), 119–122.

Czyżowska, A., Klewicka, E. i Libudzisz, Z. (2006). The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants. *European Food Research and Technology, 223*(1), 110–116.

Das, S., Williams, D. S., Das, A. i Kukreja, R. C. (2013). Beet root juice promotes apoptosis in oncogenic MDA-MB-231 cells while protecting cardiomyocytes under doxorubicin treatment. *The Journal of Experimental Secondary Science, 2*, 1–6.

Dawid, C. i Hofmann, T. (2014). Quantitation and bitter taste contribution of saponins in fresh and cooked white asparagus (*Asparagus officinalis* L.). *Food Chemistry, 145*, 427–436.

Dinehart, M. E., Hayes, J. E., Bartoshuk, L. M., Lanier, S. L. i Duffy, V. B. (2006). Bitter taste markers explain variability in vegetable sweetness, bitterness, and intake. *Physiology and Behavior, 87*(2), 304–313.

Domon, B., Costello, E. C. (1988). A systematic nomenclature for carbohydrate fragmentations in FAB MS/MS spectra of glycoconjugates. *Glycoconjugate Journal, 5*(4), 397–409.

Dong, W. W., Xuan, F. L., Zhong, F. L., Jiang, J., Wu, S., Li, D. i Quan, L. H. (2017). Comparative analysis of the rats' gut microbiota composition in animals with different ginsenosides metabolizing activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(2), 327–337.

Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Schini-Kerth, V. B. i Rimbach, G. (2015). Betanin – a food colorant with biological activity. *Molecular Nutrition and Food Research, 59*(1), 36–47.

Escribano, J., Pedreno, M. A., Garcia-Carmona, F. i Munoz, R. (1998). Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis, 9,* 124–126.

Firlej, K. (2008). *Rozwój przemysłu rolno-spożywczego w sektorze agrobiznesu i jego determinanty.* Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Krakowie.

Fontanay, S., Grare, M., Mayer, J., Finance, Ch. i Duval, R. E. (2008). Ursolic, oleanolic and betulinic acids: Antibacterial spectra and selectivity indexes. *Journal of Ethnopharmacology, 120*(2), 272–276.

Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. i Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition, 88*(6), 587–605.

Frank, T., Stintzing, F. C., Carle, R., Bitsch, I., Quaas, D., Strass, G., ... Netzel, M. (2005). Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans. *Pharmacological Research, 52*(4), 290–297.

Gandia-Herrero, F., Escribano, J. i Garcia-Carmona, F. (2016). Biological activities of plant pigments betalains. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56*, 937–945.

Gao, S., Basu, S., Yang, Z., Deb, A. i Hu, M. (2012). Bioavailability challenges associated with development of saponins as therapeutic and chemopreventive agents. *Current Drug Targets, 13*(14), 1885–1899.

Georgiev, V., Ilieva, M., Bley, T. i Pavlov, A. (2008). Betalain production in plant in vitro systems. *Acta Physiologiae Plantarum, 30*(5), 581–593.

Georgiev, V. G., Weber, J., Kneschke, E. M., Denev, P. N., Bley, T. i Pavlov, A. I. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. detroit dark red. *Plant Foods for Human Nutrition, 65*(2), 105–111.

Giglio, R. V., Patti, A. M., Cicero, A. F. G., Lippi, G., Rizzo, M., Toth, P. P. i Banach, M. (2018). Polyphenols: potential use in the prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Current Pharmaceutical Design, 24*(2), 239–258.

Gliszczyńska-Świgło, A., Szymusiak, H. i Malinowska, P. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food Additives and Contaminants, 23*(11), 1079–1087.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. i Fernández-Zurbano, P. (2014). Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry, 154*, 187–198.

Gościnna, K., Czapski, J., Mikołajczyk-Bator, K. i Kidoń, M. (2012). Zawartość barwników betalainowych, azotanów i zdolność przeciwutleniająca soków z buraka ćwikłowego w zależności od odmiany i wielkości korzenia. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna, 3,* 85–90.

Gruza, M. M., Jatczak, K., Zagrodzki, B., Filip, K. i Grynkiewicz, G. (2015). Saponiny kasztanowca: tradycyjny lek roślinny w roli odnawialnego surowca chemicznego. *Przemysł Chemiczny, 94*(3), 341–344.

Guajardo-Flores, D., Serna-Saldívar, S. O. i Gutiérrez-Uribe, J. A. (2013). Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry, 141*(2), 1497–1503.

GUS. (2015). Rocznik Statystyczny Rolnictwa. Warszawa.

GUS. (2016a). Rocznik Statystyczny Rolnictwa. Warszawa.

GUS. (2016b). Wskaźniki cen towarów i usług konsumpcyjnych w lutym 2016 roku. Pobrane z https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ceny-handel/wskazniki-cen/wskazniki-cen--towarow-i-uslug-konsumpcyjnych-w-lutym-2016-roku,2,51.html

GUS. (2017a). Rocznik Statystyczny Rolnictwa. Warszawa.

GUS. (2017b). Wskaźniki cen towarów i usług konsumpcyjnych w lutym 2017 roku. Pobrane z https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/ceny-handel/wskazniki-cen/wskazniki-cen--towarow-i-uslug-konsumpcyjnych-w-lutym-2017-roku,2,64.html

Hayes, S. J., Hayes, K. P. i Robinson, B. S. (1991). Geosmin as an odorous metabolite in cultures of a free-living amoeba, *Vannella* species (Gymnamoebia, Vannellidae). *The Journal of Protozoology, 38*(1), 44–47.

Heng, L., Vincken, J. P., Hoppe, K., Koningsveld, G. A., Decroos, K., Gruppen, H., ... Voragen, A. G. J. (2006a). Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition. *Food Chemistry, 99*(2), 326–334.

Heng, L., Vincken, J. P., van Koningsveld, G., Legger, A., Gruppen, H., van Boekel, T., ... Voragen, F. (2006b). Bitterness of saponins and their content in dry peas. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 86*(8), 1225–1231.

Herbach, K. M., Stintzing, F. C. i Carle, R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Food and Chemical Toxicology, 69*(6), 491–498.

Herbach, K. M., Stintzing, F. C. i Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science, 71*(4), 41–50.

Hierro, J. N., Herrera, T., Fornari, T., Reglero, G. i Martin, D. (2018). The gastrointestinal behavior of saponins and its significance for their bioavailability and bioactivities. *Journal of Functional Foods, 40,* 484–497.

Hoffmann, E., Charette, J i Stroobant, V. (red.). (1998). *Spektrometria mas*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.

http://www.coboru.pl/Polska/Rejestr/odm_w_rej.aspx?kodgatunku=BCW

http://www.sadyogrody.pl/warzywa/102/wzrasta_zapotrzebowanie_na_buraki_cwiklowe_sprawdz_jak_je_uprawiac,619.html

IERiGŻ-PIB. (2016a). Warzywa i przetwory. *Popyt na żywność. Stan i perspektywy*, *17*.

IERiGŻ-PIB. (2016b). Warzywa. Rynek owoców i warzyw. *Stan i perspektywy*, *49*.

IERiGŻ-PIB. (2017a). Warzywa. *Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy*, *50*.

IERiGŻ-PIB. (2017b). Warzywa. *Rynek owoców i warzyw. Stan i perspektywy*, *51*.

IERiGŻ-PIB. (2018). Rynek warzyw. *Rynek Rolny, Analizy Tendencje Oceny*, *6*(328).

Jerzmanowska, Z. (1967). *Substancje roślinne. Metody wyodrębniania.* Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

Joshipura, K. J., Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Rimm, E. B., Speizer, F. E., … Willett, W. C. (2001). The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. *Annals of Internal Medicine, 134*(12), 1106–1114.

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. i Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47*(10), 3954–3962.

Kanner, J., Harel, S. i Granit, R. (2001). Betalains – a new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49*(11), 5178–5185.

Kapadia, G. J., Azuine, M. A., Rao, G. S., Arai, T., Iida, A. i Tokuda, H. (2011). Cytotoxic effect of the red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract compared to doxorubicin (Adriamycin) in the human prostate (PC-3) and breast (MCF-7) cancer cell lines. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, *11*(3), 280–284.

Kapadia, G. J., Rao, G. S., Ramachandran, C., Iida, A., Suzuki, N. i Tokuda, H. (2013). Synergistic cytotoxicity of red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract with doxorubicin in human pancreatic, breast and prostate cancer cell lines. *Journal of Complementary and Integrative Medicine, 10*(1), 1–10.

Kapadia, G. J., Tokuda, H., Konoshima, T. i Nishino, H. (2006). Chemoprevention of lung and skin cancer by Beta vulgaris (beet) root extract. *Cancer Letters, 100*(1–2), 211–214.

Kardum, N. i Glibetic, M. (2018). Chapter three – polyphenols and their interactions with other dietary compounds: implications for human health. *Advances in Food and Nutrition Research, 84*, 103–144.

Kasprzyk, Z. (1985). Rocznik Towarzystwa Naukowego Warszawskiego, 48, 105–109.

Kazimierczak, R., Hallmann, E., Lipowski, J., Drela, N., Kowalik, A., Pussa, T., ... Rembiałkowska, E. (2014). Beetroot (*Beta vulgaris* L.) and naturally fermented beetroot

juice from organic and conventional production: metabolomics, antioxidant levels and anti-cancer activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 94*(13), 2618–2629.
Kazimierczak, R., Hallmann, E., Treščinska, V. i Rembiałkowska, E. (2011). Ocena wartości odżywczej dwóch odmian buraków ćwikłowych (*Beta vulgaris*) z uprawy ekologicznej i konwencjonalnej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 56*(3), 206–210.
Keast, R. S. J. i Breslin, P. A. S. (2002). An overview of binary taste-taste interactions. *Food Quality and Preference, 14*(2), 111–124.
Khan, M. I. i Giridhar, P. (2015). Plant betalains: chemistry and biochemistry. *Phytochemistry, 117,* 267–295.
Kidoń, M. i Czapski, J. (2007). Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i ich zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1*(50), 124–131.
Kikut-Ligaj, D. (2014a). Prediction of the bitter taste of chromones and furochromones using Simple Pharmacophore Model (SPM). *Food. Science. Technology. Quality, 1*(92), 200–214.
Kikut-Ligaj, D. (2014b). Prediction of the bitter taste of selected quinolizidine alkaloids. *Food. Science. Technology. Quality, 6*(97), 182–196.
Kikut-Ligaj, D. (2015). *Smak gorzki w kształtowaniu jakości żywności*. Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
Killeen, G. F., Madigan, C. A., Connolly, C. R., Walsh, G. A., Clark, C., Hynes, M. J., ... Power, R. F. (1998). Antimicrobial saponins of Yucca schidigera and the implications of their in vitro properties for their in vivo impact. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46,* 3178–3186.
Kim, H. Y., Yu, R., Kim, J. S, Kim, Y. K i Sung, M. K. (2004). Antiproliferative crude soy saponin extract modulates the expression of IkBa, protein kinase C, and cyclooxygenase-2 in human colon cancer cells. *Cancer Letters, 210*(1), 1–6.
Klewicka, E. (2012). Betacyjany – biodostępność i biologiczna aktywność. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2*(81), 5–21.
Klewicka, E., Laskowska, J. i Libudzisz, Z. (2005). Fermentowany sok z buraka ćwikłowego i jego aktywność przeciwutleniająca. Materiały konferencyjne Żywienie a zdrowie – interakcje (s. 55). Kraków.
Klewicka, E., Nowak, A., Zduńczyk, Z., Cukrowska, B. i Błasiak, J. (2012). Protective effect of lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of fecal water in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology, 64*(6), 599–604.
Konishi, M., Hano, Y., Takayama, M., Nomura, T., Hamzah, A. S., Ahmad, R. B. i Jasmani, H. (1998). Triterpenoid saponins from *Hedyotis nudicaulis*. *Phytochemistry, 48*(3), 525–528.
Koprivnjak, O., Škevin, D., Petričević, S., Brkić Bubola, S. i Mokrovčak, Ž. (2009). Bitterness, odor properties and volatile compounds of virgin olive oil with phospholipids addition. *LWT – Food Science and Technology, 42*(1), 50–55.
Koubaier, H. B. H., Snoussi, A., Essaidi, I., Chaabouni, M. M., Thonart, P. i Bouzouita, N. (2014). Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of tunisian red beet (*Beta vulgaris* L. *conditiva*) roots and stems extracts. *International Journal of Food Properties, 17*, 1934–1945.
Krajka-Kuźniak, V., Paluszczak, J., Szaefer, H. i Baer-Dubowska, W. (2013). Betanin, a beetroot component, induces nuclear factor erythroid-2-related factor 2-mediated

expression of detoxifying/antioxidant enzymes in human liver cell lines. *The British Journal of Nutrition, 110*(12), 2138–2149.
Kubera, H. (2002). *Zachowanie jakości produktu*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu.
Kudełka, W. (2007). Jakość sensoryczna wybranych grup żywności wygodnej. *Zeszyty Nukowe Akademii Ekonomicznej w Krakowie, 43*.
Kuhn, C., Bufe, B., Batram, C. i Meyerhof, W. (2010). Oligomerization of TAS2R bitter taste receptors. *Chemical Senses, 35*(5), 395–406.
Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D. i Pihlaja, K. (2000). Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(11), 5338–5342.
Kujala, T. S., Vienola, M. S., Klika, K. D., Loponen, J. M. i Pihlaya, K. (2002). Betalain and phenolic compositions of four beetroot (*Beta vulgaris*) cultivars. *European Food Research and Technology, 214*(6), 505–510.
Kujawska, M., Ignatowicz, E., Murias, M., Ewertowska, M., Mikołajczyk, K. i Jodynis-Liebert, J. (2009). Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and *N*-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 57(6), 2570–2575.
Kumar, N. i Pruthi. V., (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports, 4,* 86–93.
Kumar, S. i Brooks, M. S.-L. (2018). Use of red beet (*Beta vulgaris* L.) for antimicrobial applications – a critical review. *Food and Bioprocess Technology*, *11*(1), 17–42.
La Cava, E. L. M. i Sgroppo, S. C. (2015). Evolution during refrigerated storage of bioactive compounds and quality characteristics of grapefruit [*Citrus paradisi* (Macf.)] juice treated with UV-C light. *LWT – Food Science and Technology, 63*(2), 1325–1333.
La Guerche, S., Chamont, S., Blancard, D., Dubourdieu, D. i Darriet, P. (2005). Origin of (–)–geosmin on grapes: on the complementary action of two fungi, botrytis cinerea and penicillium expansum. *Antonie van Leeuwenhoek, 88*(2), 131–139.
Lara, J., Ashor, A. W., Oggioni, C., Ahluwalia, A., Mathers, J. C. i Siervo, M. (2016). Effects of inorganic nitrate and beetroot supplementation on endothelial function: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Nutrition, 55*(2), 451–459.
Larsen, F. J., Weitzberg, E., Lundberg, J. O. i Ekblom B. (2007). Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta Physiologica, 191*(1), 59–66.
Liato, V. i Aïder, M. (2017). Geosmin as a source of the earthy-musty smell in fruits, vegetables and water: Origins, impact on foods and water, and review of the removing techniques. *Chemosphere 181*, 9–18.
Lidder, S. i Webb, A. J. (2013). Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables and beetroot) via the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway. *British Journal of Clinical Pharmacology, 75*, 677–696.
Liu, H., Yang, J., Du, F., Gao, X., Ma, X., Huang, Y., ... Li, C. (2009). Absorption and disposition of ginsenosides after oral administration of *Panax notoginseng* extract to rats. *Drug Metabolism and Disposition, 37*(12), 2290–2298.
Liu, Z., Li, Z., Zhong, H., Zeng, G., Liang, Y., Chen, M., ... Shao, B. (2017). Recent advances in the environmental applications of biosurfactant saponins: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering, 5*(6), 6030–6038.

Lu, G., Edwards, C. G., Fellman, J. K., Mattinson, D. S. i Navazio, J. (2003a). Biosynthetic origin of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(4), 1026–1029.

Lu, G., Fellman, J. K., Edwards, C. G., Mattinson, D. S. i Navazio, J. (2003b). Quantitative determination of geosmin in red beets (*Beta vulgaris* L.) using headspace solid-phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51*(4), 1020–1025.

Lundberg, J. O., Carlström, M. i Weitzberg, E. (2018). Metabolic effects of dietary *nitrate* in *health* and disease. *Cell Metabolism, 28*(1), 9–22.

Lundberg, J. O., Gladwin, M. T., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Bryan, N. S., Butler, A., … Weitzberg, E. (2009). Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nature Chemical Biology, 5*(12), 865–869.

Machha, A. i Schechter, A. N. (2011). Dietary nitrite and nitrate: A review of potential mechanisms of cardiovascular benefits. *European Journal of Nutrition, 50*(5), 293–303.

Mattila P. i Hellström, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis, 20*(3–4), 152–160.

McIlvenna, L. C., Monaghan, C., Liddle, L., Fernandez, B. O., Feelisch, M., Muggeridge, D. J. i Easton, C. (2017). Beetroot juice versus chard gel: a pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of nitrate bioavailability. *Nitric Oxide, 1*(64), 61–67.

Mikołajczyk, K. (2007). *Zmiany zdolności antyoksydacyjnej (ZA) wybranych przetworów buraka ćwikłowego podczas procesu technologicznego.* Praca doktorska.

Mikołajczyk-Bator, K. (2015). *Antioxidant activity of triterpene saponins from red beet*. BACIF International Conference. Abstracts. 15–16 October, Łódź.

Mikołajczyk-Bator, K. (2016). Zawartość barwników betalainowych, zdolność antyoksydacyjna oraz cechy sensoryczne świeżych, pasteryzowanych i przechowywanych soków z buraka ćwikłowego. W: G. Lewandowicz i J. Le Thanh-Blicharz (red.), *Bioprodukty – pozyskiwanie, właściwości i zastosowanie w produkcji żywności* (s. 21–29). Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Mikołajczyk-Bator, K., Błaszczyk, A., Czyżniejewski, M. i Kachlicki, P. (2016a). Characterization and identification of triterpene saponins in the roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) using two HPLC-MS systems. *Food Chemistry, 192,* 979–990.

Mikołajczyk-Bator, K., Błaszczyk, A., Czyżniejewski, M. i Kachlicki, P. (2016b). Identification of saponins from sugar beet (*Beta vulgaris*) by low and high-resolution HPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B,* 1029–1030, 36–47.

Mikołajczyk-Bator, K. i Czapski J. (2017a). Effect of pH changes on antioxidant capacity and the content of betalain pigments during the heating of a solution of red beet betalains. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 67*(2), 123–128.

Mikołajczyk-Bator, K. i Czapski J. (2017b). Czipsy z buraków ćwikłowych jako żywność prozdrowotna. *Przemysł Spożywczy, 71*(5), 40–43.

Mikołajczyk-Bator, K. i Czapski J. (2018). Changes in the content of betalain pigments and their antioxidative capacity during storage. *Nauka Przyroda Technologie, 12*(1), 113–129.

Mikołajczyk-Bator, K. i Czyżniejewski, M. (2016). Saponiny triterpenowe buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) jako źródło związków o działaniu antyoksydacyjnym. *Przemysł Chemiczny, 95*(11), 2195–2199.

Mikołajczyk-Bator, K. i Kikut-Ligaj, D. (2016). Triterpene saponins as bitter components of red beetroot. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1*(104), 128–141.

Mikołajczyk-Bator, K. i Pawlak, S. (2016). The effect of thermal treatment on antioxidant capacity and pigment contents in separated betalain fractions. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 15*(3), 257–265.

Milgate, J. i Roberts, D. C. K. (1995). The nutritional and biological significance of saponins. *Nutrition Research, 15*(8), 1223–1249.

Mimaki, Y., Kuroda, M., Asano, T. i Sashi, Y. (1999a). Triterpene saponins and lignans from the roots of Pulsatilla chinensis and their cytotoxic activity against HL-60 cells. *Journal of Natural Products, 62*(9) 1279–1283.

Mimaki, Y., Kuroda, M., Ide, A., Kameyama, A., Yokosuka, A. i Sashida, Y. (1999b). Steroidal saponins from the aerial parts of *Dracaena draco* and their cytostatic activity on HL-60 cells. *Phytochemistry, 50,* 805–813.

Mosshammer, M. R., Stintzing, F. C. i Carle, R. (2005). Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom. *Food Research International, 38*(8–9), 975–981.

MRiRW. (2018). *Rynek owoców i warzyw świeżych, 25.*

Mroczek, A., Kapusta, I., Janda, B. i Janiszowska, W. (2012). Triterpene saponin content in the roots of red beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60*(50), 12397–12402.

Mrówczyńska-Kamińska, A. (2014). Struktura Agrobiznesu w Polsce i jego znaczenie w gospodarce w kontekście integracji z UE. W: A. Olszańska i J. Szymanska (red.), Problemy ekonomiczne i społeczne (s. 47–57). *Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, 360. Agrobiznes 2014.* Wrocław: Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu.

Münzel, T. i Daiber, A. (2018). Inorganic nitrite and nitrate in cardiovascular therapy: A better alternative to organic nitrates as nitric oxide donors?. *Vascular Pharmacology, 102*, 1–10.

Murphy, M., Eliot, K., Heuertz, R. M. i Weiss, E. (2012).Whole beetroot consumption acutely improves running performance. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics, 112*(4), 548–552.

Muth, D., Kachlicki, P. i Stobiecki, M. (2007). Spektrometria mas – możliwości wykorzystania w badaniach metabolomu roślinnego. *Biotechnologia, 1*(76), 156–175.

Nayak, C. A., Chethana, S., Rastogi, N. K. i Raghavarao, K. S. M. S. (2006). Enhanced mass transfer during solid-liquid extraction of gamma irradiated red beetroot. *Radiation Physics and Chemistry, 75*(1), 173–178.

Nemzer, B., Pietrzkowski, Z., Spórna, A., Stalica, P., Thresher, W., Michałowski, T. i Wybraniec, S. (2011). Betalainic and nutritional profiles of pigment – enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chemistry, 127*(1), 42–53.

Netzel, M., Stintzing, F. C., Quaas, D., Strab, G., Carle, R., Bitsch, R., ... Frank, T. (2005). Renal excretion of antioxidative constituents from red beet in humans. *Food Research International, 38*(8–9), 1051–1058.

Newman, D. J. (2008). Natural products as leads to potential drugs: an old process or the new hope for drug discovery? *Journal of Medicinal Chemistry, 51*(9) 2589–2599.

Ninfali, P., Bacchiocca, M., Antonelli, A., Biagiotti, E., Di Gioacchino, A. M., Piccoli, G., ... Brandi, G. (2007). Characterization and biological activity of the main flavonoids from Swiss Chard (*Beta vulgaris* subspecies cycla). *Phytomedicine, 14*(2–3), 216–221.

Oh, Y. J. i Sung, M. K. (2001). Soybean saponins inhibit cell proliferation by suppression PKC activation and induce differentiation of HT-29 human colon adenocarcinoma cells. *Nature Reviews Cancer, 39*(1), 132–138.

Oleszek, W. (2009). Substancje bioaktywne roślin i ich biosynteza w kulturach in vitro (Plant bioactive substances and their biosynthesis in vitro cultures). W: S. Małolepszy (red.), *Biotechnologia roślin* (s. 122–171). Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

Oloyede, H. O. B., Ajiboye, H. O., Salawu, M. O. i Ajiboye, T. O. (2017). Influence of oxidative stress on the antibacterial activity of betulin, betulinic acid and ursolic acid. *Microbial Pathogenesis, 111,* 338–344.

Omar, S. A., Webb, A. J., Lundberg, J. O. i Weitzberg, E. (2016). Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Internal Medicine, 279*(4), 315–336.

Ormsbee, M. J., Lox, J. i Arciero, P. J. (2013). Beetroot juice and exercise performance. *Nutrition and Dietary Supplements, 5*, 27–35.

Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A. i Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50*(11), 3122–3128.

Pedreno, M. A. i Escribano, J. (2000). Studying the oxidation and the antiradical activity of betalain from beetroot. *Journal of Biological Education, 35,* 49–51.

Pedreno, M. A. i Escribano, J. (2001). Correlation between antiradical activity and stability of betanine from *Beta vulgaris* L roots under different pH, temperature and light conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 81*(7), 627–631.

Phillipson, J. D. (2007). Phytochemistry and pharmacognosy. *Phytochemistry, 68*(22–24), 2960–2972.

Piasek, A., Bartoszek, A. i Namieśnik. J. (2009). Substancje pochodzenia roślinnego przeciwdziałające kardiotoksyczności towarzyszącej chemioterapii nowotworów. *Postepy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 63,* 142–158.

Pihlsgård, P., Larsson, M., Leufvén, A. i Lingnert. H. (2000). Volatile compounds in the production of liquid beet sugar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48*(10), 4844–4850.

PN-ISO 3972:2016-07. Analiza sensoryczna – Metodyka – Metody badania wrażliwości smakowej.

PN-EN ISO 4120:2007. Analiza sensoryczna – Metodologia – Metoda trójkątowa.

PN-EN ISO 8589:2010. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne dotyczące projektowania pracowni analizy sensorycznej.

PN-EN ISO 13299:2010, Analiza sensoryczna – Metodologia – Ogólne wytyczne ustalania profilu sensorycznego.

PN-EN ISO 8586:2014-03. Analiza sensoryczna – Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania wybranych oceniających i ekspertów oceny sensorycznej.

Preczenhak, A. P., Tessmer, M. A., Berno, N. D., de Abreu Vieira, A. P. i Kluge, R. A. (2018). Initial stages of minimal processing of red beets result in significant loss of bioactive compounds. *LWT – Food Science and Technology, 96*, 439–445.

Presley, T. D., Morgan, A. R., Bechtold, E., Clodfelter, W., Dove, R. W., Jennings, J. M., ... Miller, G. D. (2011). Acute effect of a high nitrate diet on brain perfusion in older adults. *Nitric Oxide, 24*(1), 34–42.

Rakin, M. B., Vukasinovis, M., Marinkovic, S. S. i Maksimovic, M. (2007). Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chemistry, 100*(2), 599–602.

Rao, A. V. i Gurfinkel, D. M. (2000). The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. *Drug Metabolism and Drug Interactions, 17*(1–4), 211–235.

Ravichandran, K., Ahmed, A. R., Knorr, D. i Smetanska, I. (2012). The effect of different processing methods on phenolic acid content and antioxidant activity of red beet. *Food Research International, 48*(1), 16–20.

Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A. A., Gabr, A. M. M., Kastell, A., Riedel, H., ... Smetanska, I. (2013). Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International, 50*(2), 670–675.

Reichling, C., Meyerhof, W. i Behrens, M. (2008). Functions of human bitter taste receptor depend on N-glycosylation. *Journal of Neurochemistry, 106*(3), 1138–1148.

Reim, V. i Rohn, S. (2015). Characterization of saponins in peas (*Pisum sativum* L.) by HPTLC coupled to mass spectrometry and a hemolysis assay. *Food Research International, 76*(1), 3–10.

Ribeiro, I. A. i Ribeiro, M. H. L. (2008). Naringin and naringenin determination and control in grapefruit juice by a validated HPLC method. *Food Control,* 19, 432–438.

Ribeiro, M. H. L., Afonso, C., Vila-Real, H. J., Alfaia, A. J. i Ferreira, L. (2010). Contribution of response surface methodology to the modeling of naringin hydrolysis by naringinase Ca--alginate beads under high pressure. *LWT – Food Science and Technology, 43*(3), 482–487.

Richardson, B. (2013). *Identification and characterization of potent odorants in selected beet root (Beta vulgaris) products.* Thesis. Urbana: University of Illinois at Urbana – Champaign. Pobrane z http://hdl.handle.net/2142/45435

Rodriguez-Amaya, D. B. (2018). Update on natural food pigments – a mini-review on carotenoids, anthocyanins, and betalains. *Food Research International*, (w druku). Pobrane z https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.05.02

Roemmelt, A. T., Franckenberg, S., Steuer, A. E. i Kraemer, T. (2014). Purple discoloration of the colon found during autopsy: Identification of betanin, its aglycone and metabolites by liquid chromatography – high-resolution mass spectrometry. *Forensic Science International 240,* e1–e6.

Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13 stycznia 2003 r. w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych, które mogą znajdować się w żywności, składnikach żywności, dozwolonych substancjach dodatkowych, substancjach pomagających w przetwarzaniu albo na powierzchni żywności (Dz. U. z 4 marca 2003 r., poz. 37).

Sarikahya, N. B., Nalbantsoy, A., Top, H., Gokturk, R. S., Sumbul, H. i Kirmizigul, S. (2018). Immunomodulatory, hemolytic and cytotoxic activity potentials of triterpenoid saponins from eight *Cephalaria* species. *Phytomedicine, 38*, 135–144.

Sawicki, T., Bączek, N. i Wiczkowski, W. (2016). Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods, 27,* 249–261.

Sawicki, T. i Wiczkowski, W. (2018).The effect of boiling and fermentation on betalain profiles and antioxidant capacities of red beetroot products. *Food Chemistry, 259*, 292–303,

Schnürer, J., Olsson, J. i Börjesson, T. (1999). Fungal volatiles as indicators of food and feeds spoilage. *Fungal Genetics and Biology, 27*(2–3), 209–217.

Sheila, J., Sarah, J. M., Priyadarshini, S., Sivaraj, C. i Arumugam, P. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of *Beta vulgaris* L. peel extracts. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences, 5*(6), 1974–1979.

Shi, P. i Zhang, J. (2006). Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Molecular Biology and Evolution, 23*(2), 292–300.

Sikorski, E. (red.). (2002). *Chemia żywności*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowo-Techniczne.

Singh, B., Singh, J. P., Singh, N. i Kau, A. (2017). Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. *Food Chemistry, 233,* 540–549.

Singh, D. i Chaudhuri, P. K. (2018). Structural characteristics, bioavailability and cardioprotective potential of saponins. *Integrative Medicine Research, 7*(1), 33–43.

Singh, J. P., Kaur, A., Shevkani, K. i Singh, N. (2016). Composition, bioactive compounds and antioxidant activity of common Indian fruits and vegetables. *Journal of Food Science and Technology, 53*(11), 4056–4066.

Sirtori, C. R. (2001). Aescin: pharmacology, pharmacokinetics and therapeutic profile. *Pharmacological Research, 44*(3), 183–193.

Slatnar, A., Stampar, F., Vebaric, R. i Jakopic, J. (2015). HPLC-MS^n identification of betalains profile of different beetroot (*Beta Vulgaris* L. ssp. *Vulgaris*) parts and cultivars. *Journal of Food Science, 80*(9), 1952–1958.

Slimen, I. B., Najar, T. i Abderrabba, M. (2017). Chemical and antioxidant properties of betalains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65*(4), 675–689.

Sotos, J. G. (1999). *Beeturia* and iron absorption. *The Lancet, 354*(9183), 1032.

Sparg, S. G., Light, M. E. i van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, *94*(2–3), 219–243.

Srinivasan, R. i Sorial, G. A. (2011). Treatment of taste and odor causing compounds 2-methyl isoborneol and geosmin in drinking water: a critical review. *Journal of Environmental Sciences, 23*(1), 1–13.

Stanisz, A. (2000). *Przystępny kurs statystyki w oparciu o program STATISTICA PL na przykładach z medycyny.* Kraków: Wydawnictwo StatSoft.

Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C, ... Felker, P. (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* sp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451.

Stintzing, F. C., Schieber, A. i Carle, R. (2003). Evaluation of colour properties and chemical quality parameters of cactus juices. *European Food Research and Technology, 216*(4), 303–311.

Strack, D., Vogt, T. i Schliemann, W. (2003). Recent advances in betalain research. *Phytochemistry, 62*(3), 247–269.

Svenson, J., Smallfield, B. M., Joyce, N. I., Sansom, C. E. i Perry, N. B. (2008). Betalains in red and yellow varieties of the Andean tuber crop ulluco (*Ullucus tuberosus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56*(17), 7730–7737.

Szajdek, A. i Borowska, J. (2004). Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 4*(41) S, 5–28.

Tesoriere, L., Allegra, M., Butera, D. i Livera, M. A. (2004). Absorbtion, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition, 80*(4), 941–945.

Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M. i Livera, M. A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53*(4), 1266–1270.

Tesoriere, L., Gentile, C., Angileri, F., Attanizo, A., Tutone, M., Allegra, M. i Livrea, M. A. (2013), Trans-epithelial transport of the betalain pigments indicaxanthin and betanin across Caco-2 cell monolayers and influence of food matrix. *European Journal of Nutrition, 52*(3), 1077–1087.

Theo, R., Hanna, S., Timo, W., Matthias, E., Corinna, D., Thomas, H. i Jochen, W. (2018). Value addition of red beet (*Beta vulgaris* L.) by-products: emulsion formation and stability. *International Journal of Food Science and Technology*, IJFST-2018-24954 (w druku).

Troszyńska, A. (2004). Non-nutrient bioactive substances in food of plant origin causing bitterness and astringency. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 13/54*(1), 65–73.

Tsurumi, S., Takagi, T. i Hashimotoq, T. (1992). A γ-pyronyl-triterpenoid saponin from *Pisum sativum*. *Phytochemistry*, 31(7), 2435–2438.

Vidal, P. J., López-Nicolás, J. M., Gandía-Herrero, F. i García-Carmona, F. (2014). Inactivation of lipoxygenase and cyclooxygenase by natural betalains and semi-synthetic analogues. *Food Chemistry, 154*(1), 246–254.

Vinson, J. A., Hao, Y., Su, X. i Zubik, L. (1998). Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46*(9), 3630–3634.

Vulić, J. J., Ćebović, T. N., Čanadanović-Brunet, J. M., Ćetković, G. S., Čanadanović, V. M., Djilas, S. M. i Šaponjac, V. T. T. (2014). *In vivo and in vitro* antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods, 6,* 168–175.

Wan, J. Y., Liu, P., Wang, H. Y., Qi, L. W., Wang, C. Z., Li, P. i Yuan, C. S. (2013). Biotransformation and metabolic profile of American ginseng saponins with human intestinal microflora by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1286,* 83–92.

Watson, S. B., Ridal, J., Zaitlin, B. i Lo, A. (2003). Odours from pulp mill effluent treatment ponds: the origin of significant levels of geosmin and 2- methylisoborneol (MIB). *Chemosphere*, *51*(8), 765–773.

Watts, A. R., Lennard, M. S., Mason, S. L., Tucker, G. T. i Woods, H. F. (1993). Beeturia and the biological fate of beetroots pigments. *Pharamacogenetics*, *3*(6), 302–311.

Wettasinghe, M., Bolling, B., Plhak, L. Xiao, H. i Parkin, K. (2002). Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(23), 6704–6709.

Wiczkowski, W., Romaszko, E., Szawara-Nowak, D. i Piskula, M. K. (2018). The impact of the matrix of red beet products and interindividual variability on betacyanins bioavailability in humans. *Food Research International, 108*, 530–538.

Wruss, J., Waldenberger, G., Huemer, S., Uygun, P., Lanzerstorfer, P., Muller, U., ... Weghuber, J. (2015). Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *Journal of Food Composition and Analysis, 42*, 46–55.

Xiao, K., Yi, Y. H., Wang, Z. Z., Tang, H. F., Li, Y. Q. i Lin, H. W. (1999). A cytotoxic triterpene saponin from the root bark of Aralia dasyphylla. *Journal of Natural Products*, *62,* 1030–1032

Yoshikawa, M., Murakami, T., Kadoya, M., Yamahara, J. i Matsuda, H. (1996). Medical Foodstuffs. III. Sugar beet. (1): Hypoglycemic oleanolic acid oligoglycosides, betavulgarosides I, II, III, and IV, from the root of *Beta vulgaris* L. (Chenopodiaceae). *Chemical Pharmaceutical Bulletin, 44*, 1212–1217.

Yoshikawa, M., Murakami, T., Kadoya, M., Yamahara, J. i Matsuda, H. (1998). Medical Foodstuffs. XV. Sugar beet. (2): Structures of betavulgarosides V, VI, VII, VIII, IX and X from the roots and leaves of sugar beet (*Beta vulgaris* L., Chenopodiaceae). *Chemical Pharmaceutical Bulletin, 46*, 1758–1763.

Young, W. F., Horth, H., Crane, R., Ogden, T. i Arnot, M. (1996). Taste and odour threshold concentrations of potential potable water contaminants. *Water Research, 30*(2), 331–340.

Zaitlin, B. i Watson, S. B. (2006). Actinomycetes in relation to taste and odour in drinking water: myths, tenets and truths. *Water Research, 40*(9), 1741–1753.

Žitňanová, I., Ranostajová, S., Sobotová, H., Demelová, D., Pecháň, I. i Ďuračková, Z. (2006). Antioxidative activity of selected fruits and vegetables. *Biologia, 61*(3), 279–284.

Zielińska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Dobrowolska-Zachwieja, A. i Grajek, W. (2009). In vitro effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytotherapy Research, 23*(1), 49–55.

Zielińska-Przyjemska, M., Olejnik, A., Kostrzewa, A., Łuczak, M., Jagodziński. P. P. i Baer-Dubowska, W. (2012). The beetroot component betanin modulates ROS production, DNA damage and apoptosis in human polymorphonuclear neutrophils. *Phytotherapy Research, 26*, 845–852.

SPIS TABEL I RYSUNKÓW

Spis tabel

1. Struktura spożycia głównych produktów żywnościowych w latach 2010–2017 13
2. Odmiany buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. wpisane do Krajowego Rejestru (KR) COBORU 16
3. Powierzchnia uprawy i zbiorów w Polsce w latach 2014–2017 18
4. Ceny skupu warzyw spożywanych w największej ilości w Polsce (zł/kg) 20
5. Noty sensoryczne różnych deskryptorów smaku korzeni buraka ćwikłowego 62
6. Saponiny triterpenowe różnych odmian korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. zidentyfikowane za pomocą analiz HPLC-ESI-MS/MS 83
7. Rodzaje i liczba występujących aglikonów w korzeniach różnych odmian buraka ćwikłowego 90
8. Charakterystyka grup izomerów obecnych w ekstraktach saponin wyizolowanych z korzeni różnych odmian buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) 91
9. Saponiny triterpenowe obecne w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego z podstawnikiem acetalowym lub dioksolanowym 98
10. Saponiny zidentyfikowane w różnych częściach korzeni buraka ćwikłowego i odpowiadające im betawulgarozydy zidentyfikowane przez Yoshikawa i współpracowników (1996; 1998) 99
11. Betawulgarozydy buraków ćwikłowych z różną liczbą izomerów saponin występujących w korzeniach buraka ćwikłowego 101
12. Liczba saponin triterpenowych zidentyfikowanych w przetworach buraka ćwikłowego 105
13. Porównanie składu jakościowego saponin triterpenowych w różnych odmianach korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. w świeżym surowcu i w przetworach ogrzewanych (100°C/30min) oraz przechowywanych (6 miesięcy/4°C), zidentyfikowane za pomocą analiz HPLC-ESI-MS/MS 106
14. Całkowita zawartość saponin triterpenowych w różnych odmianach i częściach korzeni buraka ćwikłowego oraz w sokach 112
15. Całkowita zawartość saponin triterpenowych w różnych odmianach świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz w jego przetworach 113

16. Zawartość saponin triterpenowych w wodnych roztworach mieszanin saponin poddanych analizie sensorycznej [g/l] 116
17. Porównanie progów rozpoznania smaku gorzkiego ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych z buraka ćwikłowego do gorzkiego wzorca kofeiny oraz sojasaponiny I 121
18. Porównanie zawartości saponin triterpenowych buraka ćwikłowego do wyznaczonych progów rozpoznania smaku gorzkiego 123
19. Wyniki analizy regresji dla zmiennej zależnej: smak gorzki (A) i posmak gorzki (B) 129
20. Wyniki analizy wariancji (ANOVA) w regresji dla zależności smaku gorzkiego i całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego 130
21. Wyniki analizy regresji dla zmiennej zależnej aktywność antyoksydacyjna saponin 137
22. Wyniki analizy wariancji (ANOVA) w regresji dla zależności aktywności antyoksydacyjnej saponin i całkowitej zawartości saponin triterpenowych w różnych odmianach buraka ćwikłowego 137

Spis rysunków

1. Struktura konsumpcji warzyw i ich przetworów w I półroczu 2016 roku [%] 21
2. Procentowy udział produktów rolno-spożywczych eksportowanych z Polski o łącznej wartości 24, 2 mld EUR (2016 rok) [%] 23
3. Schemat eksperymentu 49
4. Schemat otrzymywania barwników betalainowych buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) 51
5. Schemat otrzymywania saponin triterpenowych buraka ćwikłowego (*Beta vulgaris* L.) 52
6. Skala hybrydowa łącząca zakresy skali liczbowej od 0 do 9 (10-punktowa) z zakotwiczonymi kategoriami (przykład kategorii smaku gorzkiego) 61
7. Profilogram jakości sensorycznej cech goryczkowych w świeżych burakach tartych otrzymanych z miąższu (A) i ze skór różnych odmian buraka ćwikłowego (B) 63
8. Relacje między smakiem gorzkim i słodkim w świeżych burakach ćwikłowych otrzymanych z miąższu (A) i ze skór różnych odmian (B) 65
9. Wyniki analiz sensorycznych trzech odmian buraka ćwikłowego z zaznaczonymi deskryptorami smaku w miąższach (A) i w skórach świeżych korzeni (B) 68
10. Relacje między badanymi wyróżnikami smaku soków świeżych, pasteryzowanych i przechowywanych otrzymanych z odmian Nochowski (A), Chrobry (B), Bonel (C) 71

11. Profilogram jakości sensorycznej świeżych, ogrzewanych i przechowywanych tartych buraków ćwikłowych otrzymanych z różnych części korzeni i odmian: miąższ Bonel (A), skóra Bonel (B), miąższ Chrobry (C), skóra Chrobry (D), miąższ Nochowski (E), skóra Nochowski (F) 75
12. Nazewnictwo jonów fragmentacyjnych cukrów w saponinach buraka ćwikłowego, według metody Domona i Costella 82
13. Chromatogramy HPLC-ESI/MS ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych z różnych odmian i części korzeni buraka ćwikłowego *Beta vulgaris* L. 89
14. Struktury chemiczne aglikonów saponin buraka ćwikłowego 90
15. Widma MS^n jonu pseudomolekularnego *m/z* 791,3861 saponiny 37 (t_R = 58,5, Bonel), 40/44 (40 – Bonel, Chrobry t_R = 59,7; 44 – Nochowski t_R = 60,3) i 42 (t_R = 58,6, Nochowski), które są dowodem na to, że podczas fragmentacji jon pseudomolekularny saponiny ulega rozpadowi do dwóch różnych aglikonów (kwasu oleanolowego i akebonowego) 95
16. Chromatogramy HPLC-ESI/MS ekstraktów saponin triterpenowych wyizolowanych ze świeżych korzeni buraka ćwikłowego oraz z ich przetworów (ogrzewanych i przechowywanych), na przykładzie odmiany Nochowski 103
17. Wyniki analizy sensorycznej intensywności smaku i posmaku gorzkiego różnych stężeń wodnych roztworów mieszanin saponin wyizolowanych z miąższu i skóry korzeni trzech odmian buraka ćwikłowego 117
18. Wykres rozrzutu: intensywność smaku gorzkiego (A) oraz intensywność posmaku gorzkiego (B), względem całkowitej zawartości saponin w skórze i miąższu korzeni trzech odmian buraka ćwikłowego Bonel, Chrobry i Nochowski 126
19. Wykres linii regresji dla: intensywności smaku gorzkiego (A) oraz posmaku gorzkiego (B), względem całkowitej zawartości saponin triterpenowych w korzeniach buraka ćwikłowego i jego przetworach ogrzewanych i przechowywanych 131
20. Aktywność antyoksydacyjna mieszanin saponin wyizolowana z trzech odmian buraka ćwikłowego w zależności od części korzeni 134

THE SIGNIFICANCE OF SECONDARY METABOLITES IN SHAPING THE SENSORY AND HEALTH QUALITY OF FOOD PRODUCTS MADE FROM BEETROOT

Summary

The monograph is a comprehensive research paper which covers many aspects connected with the quality of beetroot as the source of secondary metabolite having impact on the sensory and health quality of food products. In the monograph the current scientific knowledge concerning vegetable market in Poland was described. The paper also touches upon the research on the qualitative composition of beetroots, which was carried out by means of mass spectrometry, which allowed for the identification of new, so far not described triterpenoid saponins in different beet varieties and additionally change in their composition during heat treatment of the material and storage of the produced preserves. The influence of food processing and storage of finished products made from beetroot on their sensory characteristics including sweet and sour taste was also presented in the paper. The role of triterpenoid saponins acting as antioxidants increasing the health promoting value of products derived from beetroot was also demonstrated in the paper.

The criteria of materials selection in order to obtain food products having high sensory quality and health promoting values were also determined. Application potential of different beetroot varieties as regards their suitability for the production of food products meting the expectations of consumers who nowadays pay special attention to health promoting and sensory characteristics of purchased products was also proved. The monograph also provides the explanation of the impact that beetroot natural substances have on our health.

The results of scientific research presented in this monograph have a significant influence on the current knowledge and further development of all aspects connected with beetroot quality and its products, mainly as far as health issues and sensory characteristics increasing the demand for a final product are concerned. The results of the studies may provide food producers with relevant knowledge related to the possibility of a given beetroot selection to the kind of obtained product, which may contribute to the development of agro-food industry.

Keywords: shaping the quality of food products, products of beetroot, triterpene saponins.

Autorka w szczegółowy i krytyczny sposób opisuje aktualny stan wiedzy na temat rynku warzyw w Polsce oraz wtórnych metabolitów obecnych w burakach ćwikłowych i ich wpływu na jakość produktów spożywczych. Następnie przedstawia wyniki badań własnych, które dotyczyły składu chemicznego i analizy sensorycznej surowca, jak i jego przetworów. Wyniki badań obejmowały także wpływ ogrzewania i przechowywania przetworów z buraka ćwikłowego na ich aktywność przeciwutleniającą oraz cechy sensoryczne. Warto podkreślić bardzo szerokie spektrum eksperymentalne i analityczne, które zastosowała Autorka pracy. Na szczególne uznanie zasługują ponadto badania składu jakościowego buraków, w tym przede wszystkim pionierskie badania, które pozwoliły na rozpoznanie nowych, niezidentyfikowanych dotąd saponin triterpenowych w różnych odmianach buraków ćwikłowych oraz zmian ich zawartości w czasie przetwarzania i przechowywania. W swojej pracy Autorka podjęła także próbę wyjaśnienia wpływu procesów technologicznych na cechy sensoryczne, w tym głównie smak gorzki i słodki gotowych przetworów z buraków ćwikłowych.

Z recenzji prof. dr hab. inż. Anny Gramzy-Michałowskiej

Publikacja jest oryginalnym, twórczym osiągnięciem Autorki, mającym istotny wpływ na stan wiedzy i kierunki dalszych badań w zakresie kreowania jakości surowców pochodzenia roślinnego oraz powstałych z nich przetworów, zwłaszcza w kontekście walorów sensorycznych oraz zdrowotności, co jest szczególnie ważne dla konsumentów ze względu na wzrost ich wiedzy na temat relacji żywność – żywienie – zdrowie.
Monografia łączy trzy aspekty: teoretyczny, empiryczny i aplikacyjny. Aspekt teoretyczny jest związany z analizą literatury przedmiotu oraz aktów normatywnych i prawnych. Aspekt empiryczny dotyczy analizy uzyskanych wyników związanych z towaroznawczą charakterystyką buraka ćwikłowego i jego produktów. Aspekt aplikacyjny jest związany z zarysowaną propozycją proceduralną dotyczącą możliwości jej wykorzystania w kreowaniu jakości produktów pochodzenia roślinnego.

Z recenzji dr. hab. inż. Stanisława Popka

ISBN 978-83-7417-989-8
9 788374 179898