

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Zmiany aktywności przeciwutleniającej, zawartości barwników betalainowych i polifenoli w roztworach koncentratu soku z buraka ćwikłowego podczas ogrzewania

KATARZYNA GOŚCINNA, JANUSZ CZAPSKI, DOROTA WALKOWIAK-TOMCZAK
UNIwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu,
Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego

Słowa kluczowe: burak ćwikłowy, barwniki betalainowe, polifenole, aktywność przeciwutleniająca, ogrzewanie, płaszczyzny odpowiedzi

STRESZCZENIE

Celem badań było określenie wpływu czasu, temperatury i pH roztworów koncentratu z soku buraka ćwikłowego rozcieńczonego do zawartości ekstraktu 14% na zmiany zawartości barwników betalainowych, polifenoli i aktywności przeciwutleniającej. Doświadczenie zaplanowano z zastosowaniem metody płaszczyzn odpowiedzi, w układzie doświadczalnym Box-Behnkena przy trzech poziomach zmiennych niezależnych: temperatury ogrzewania (70-90°C), czasu ogrzewania (0-120 min) i wartości pH (3-6). Największą stabilność barwników stwierdzono w próbach o pH 4,5. Istotny wpływ na zmianę zawartości barwników, na podstawie współczynników równań płaszczyzn odpowiedzi, miała temperatura i czas ogrzewania oraz interakcje między nimi. Temperatura i czas ogrzewania nie miały istotnego wpływu na zawartość polifenoli. Istotny był natomiast wpływ pH. Zaobserwowano wysoką korelację pomiędzy zawartością barwników betalainowych, a zdolnością przeciwutleniającą badanych prób. Największy wpływ na zdolność przeciwutleniającą miała temperatura ogrzewania. Dla większości zmiennych zależnych uzyskano dobre dopasowanie dla płaszczyzn drugiego stopnia. Metoda płaszczyzn odpowiedzi w badanym zakresie czynników doświadczalnych umożliwia dobre przewidywanie zmian zawartości związków biologicznie aktywnych oraz zdolności przeciwutleniającej w roztworach koncentratu soku z buraka ćwikłowego, w zależności od warunków ogrzewania.

Changes in antioxidant activity, contents of betalains and polyphenols in solutions of red beet concentrate during heating

Keywords: red beet, betalains, polyphenols, antioxidant activity, heating, response surface

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of temperature, time and pH values on changes in betalain and polyphenol contents and antioxidant capacity in solutions (14% extract) of red beet juice concentrate during heating. Analyses were conducted in model systems with the use of response surface methodology, according to the Box-Behnken design for three independent variables: temperature (70-90°C), time (0-120 min) and pH (3-6).

The highest stability of betalain pigments was determined in pH 4,5. The time and temperature of heating and interactions between them had the greatest effect on betalain pigments. pH value had the greatest effect on polyphenol contents, while temperature and time of heating had no significant effect on them. The temperature of heating had the strongest effect on antioxidant capacity. The pigment contents was significantly correlated with antioxidant capacity. The goodness of fit for quadratic equations was obtained for the most responses. Within the tested range of experimental factors the response surface method makes it possible to predict changes in bioactive compound contents and antioxidant activity, dependent on heating conditions.

1. WPROWADZENIE

Od kilkunastu lat obserwuje się wzrost zainteresowania, zarówno technologów, jak i konsumentów, żywnością o cechach funkcjonalnych i prozdrowotnych. Dużo uwagi poświęca się obecności w żywności związków o charakterze przeciwutleniającym, naturalnych barwników, witamin, związków mineralnych, błonnika pokarmowego i innych. Buraki ćwikłowe zawierają liczne składniki, którym przypisuje się aktywność biologiczną i właściwości prozdrowotne. Wśród tych związków należy wymienić przede wszystkim barwniki betalainowe, związki mineralne (potas, żelazo, wapń), foliany, polifenole i betainę (trimetyloglicyna). Buraki ćwikłowe to ponadto źródło łatwo przyswajalnych sacharydów oraz błonnika pokarmowego [1, 2]. W naszej strefie klimatycznej warzywo to jest powszechnie uprawiane, a w strukturze spożycia warzyw w Europie stanowi ono 8% [3]. Jego produkcja w Polsce wynosi średnio 360 tys. ton rocznie. Uwzględniając wartość odżywczą i dietetyczną buraków ćwikłowych oraz dobrą bazę surowcową w Polsce, poza tradycyjnym przetwórstwem na konserwy, susze, zagęszczone soki, sałatki i koncentraty obiadowe, rozwija się produkcja pitnych soków wielowarzywnych i owocowo-warzywnych z udziałem tego komponentu.

Barwa buraków ćwikłowych i ich przetworów jest kształtowana obecnością barwników betalainowych i stosunkiem ilościowym zawartości barwników fioletowych (betacyjany) do żółtych (betaksantyny). Wśród betacyjanów dominuje batanina i izobetanina, a wśród betaksantyn wulgaksantyna [3]. Stosunek zawartości betacyjanów do betaksantyn waha się od 1 do 3 i zależy od odmiany, zaś w przetworach od stosowanej technologii, warunków utrwalania (pasteryzacji lub sterylizacji) i przechowywania. Zawartość betalain w burakach ćwikłowych wynosi przeciętnie 1000 mg/100 g s.m., czyli 1%. Ich stabilność w przetworach zależy przede wszystkim od warunków ogrzewania, a także obecności kationów metali, związków chelatujących, aktywności wody oraz dostępności tlenu i światła [4].

Barwniki betalainowe cechują się zdolnością wygaszania wolnych rodników w środowisku i wykazują właściwości przeciwutleniające [5-7]. Buraki ćwikłowe należą do grupy 10 warzyw o najwyższej aktywności przeciwutleniającej [6]. Dane literaturowe wskazują na wysoką korelację pomiędzy zawartością betacyjanów a zdolnością przeciwutleniającą [8]. Aktywność przeciwutleniająca jest związana również z obecnością polifenoli, choć ich zawartość w burakach ćwikłowych jest stosunkowo mała [9, 10]. Wśród związków fenolowych obecnych w omawianym warzywie domi-

nują pochodne kwasu ferulowego (np. glukopiranozyd kwasu ferulowego) oraz flawonoidy (np. betagarin, betavulgarin) [9]. Właściwości funkcjonalne i prozdrowotne soku z buraka ćwikłowego można dodatkowo podwyższyć na drodze fermentacji mlekowej z zastosowaniem bakterii probiotycznych [11]. Zarówno barwniki betalainowe, jak i związki polifenolowe ulegają przemianom degradacyjnym w wyniku obróbki termicznej podczas przetwarzania buraków ćwikłowych. Jednocześnie często stwierdzano wzrost aktywności przeciwutleniającej w produktach ogrzewanych, co mogłoby świadczyć o powstawaniu innych związków degradacji cieplnej wykazujących zdolności przeciwutleniające [12]. Celem badań było określenie wpływu czasu, temperatury i pH roztworów koncentratu z soku buraka ćwikłowego podczas ogrzewania na zmiany zawartości barwników betalainowych, polifenoli i aktywności przeciwutleniającej, w układzie modelowym z zastosowaniem metody płaszczyzn odpowiedzi i planu doświadczalnego Box-Behnkena.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1 Koncentrat soku z buraka ćwikłowego

Materiałem badanym był koncentrat soku z buraka ćwikłowego (Vin-Kon SA, Konin) o zawartości barwników fioletowych 423,0 mg/100 g i zawartości barwników żółtych 127,9 mg/100 g.

2.2 Plan doświadczalny

Planowanie doświadczenia oraz analizę wyników przeprowadzono z użyciem programu Design-Expert (ver. 7.1, Stat Ease Inc.). W Tabeli 1 przedstawiono zakres wartości zmiennych niezależnych. Są to wartości rzeczywiste poziomów czynników, odpowiadające wartościom kodowym -1 oraz 1, czyli odpowiednio najniższemu i najwyższemu poziomowi czynnika. Punkt kodowy 0 odpowiada połowie badanego zakresu, czyli średniemu poziomowi. Wybrano układ doświadczalny wg modelu Box-Behnkena obejmujący 17 punktów pomiarowych, w tym punkt centralny o kodzie 0, 0, 0, dla którego doświadczenia powtórzono 5-krotnie (Tab. 2). Zmiennymi zależnymi była zawartość barwników betalainowych, polifenoli oraz zdolność przeciwutleniająca.

Na podstawie przeprowadzonego planu doświadczenia przygotowano rozcieńczenia koncentratu w roztworach buforu fosforanowego o pH:

3,0; 4,5 i 6,0. Fiolki o pojemności 25 ml napełniono roztworem koncentratu, a następnie ogrzewano je w termostacie wodnym, w odpowiedniej temperaturze, przez czas zgodny z planem doświadczenia.

Tabela 1 Poziomy badanych czynników – zmiennych niezależnych

Table 1 Levels of investigated factors – independent variables

Oznaczenie zmiennej	Zmienna niezależna	Zakres
A	temperatura ogrzewania [°C]	70 - 90
B	czas ogrzewania [min]	0 - 120
C	pH	3 - 6

Tabela 2 Plan doświadczenia wg Box-Behnkena dla 3 czynników doświadczalnych

Table 2 Model of experiment conducted according to Box-Behnken design for 3 factors

Numer próby	Temperatura ogrzewania (czynnik A)	Czas ogrzewania (czynnik B)	pH (czynnik C)
1	90	60	6
2	80	0	3
3	70	60	6
4	90	60	3
5	80	120	3
6	70	0	4,5
7	80	60	4,5
8	80	60	4,5
9	80	60	4,5
10	80	60	4,5
11	80	120	6
12	70	120	4,5
13	90	120	4,5
14	80	60	4,5
15	90	0	4,5
16	80	0	6
17	70	60	3

2.3 Oznaczenie zawartości barwników betalainowych

Zawartość barwników betalainowych oznaczono wysokosprawną chromatografią cieczową HPLC [13]. Rozdział analityczny prób przeprowadzono

na kolumnie Waters, SunFire o 18 atomach węgla w łańcuchu alkilowym (C18), o wymiarach 4,6 mm x 250 mm i średnicy ziaren wypełnienia 5 µm, w odwróconym układzie faz RP. Rozdział prowadzono w temperaturze pokojowej, przy przepływie 1 cm³/min, stosując dwie fazy ruchome. Faza A: 0,2% TFA (kwas trifluorooctowy), 10% HCOOH (65:35 v/v) i faza B: 100% ACN (acetonityl), 10% HCOOH (80:20 v/v). W pierwszych 15 minutach prowadzono elucję izokratyczną, stosując 100% fazy A, a od 15 do 60 minuty stosowano gradient od 0 do 20% fazy B. Rejestrację prowadzono w zakresie światła widzialnego. Odczyt dla barwników fioletowych wykonano przy długości fali 540 nm, a dla barwników żółtych przy 475 nm. Analizę wyników przeprowadzono na podstawie wielkości powierzchni pików.

2.4 Oznaczenie zawartości polifenoli

Związki polifenolowe ogółem oznaczono metodą z odczynnikiem Folina-Ciocalteu wg Fang i in. [14].

Do próbówki pobierano 200 µl odpowiednio rozcieńczonej próby i dodawano 800 µl wody. Po zmieszaniu, do próby dodawano 5 ml 0,2 N odczynnika Folin-Ciocalteu i ponownie mieszano. Po 3 min dodawano 4 ml roztworu bezwodnego węgla sodu (75 g/l). Po 2 godzinach stabilizacji roztworu w ciemności dokonywano pomiaru absorbancji za pomocą spektrofotometru Helios Alpha (Thermo Electron Corporation USA) przy długości fali 765 nm. Zawartość związków polifenolowych obliczono na podstawie krzywej wzorcowej wyznaczonej dla kwasu chlorogenowego i wyrażono w mg na 100 ml roztworu koncentratu.

2.5 Oznaczenie zdolności przeciwutleniającej

Zdolność przeciwutleniającą oznaczono z użyciem kationorodnika ABTS⁺ [15]. Metoda ta polega na spektrofotometrycznym pomiarze zmian stężenia kationorodnika ABTS⁺ w obecności K₂O₂O₈. W ten sposób bada się właściwości antyoksydacyjne związków, określając ich zdolność do redukcji stabilnych rodników ABTS⁺, które powstają na skutek utleniania nadsiarczanem potasu związku ABTS. Próby inkubowano przez 6 minut w łaźni wodnej w temperaturze 30°C, po czym mierzono absorbancję przy długości fali 734 nm.

Przygotowanie próby zerowej

Do 5 ml rozcieńczonego roztworu ABTS⁺ dodano 50 µl buforu fosforanowego (PBS), wymieszano i inkubowano w łaźni wodnej w temperaturze

30 °C. Pomiaru absorbancji dokonywano dokładnie po 6 minutach inkubacji, przy długości fali 734 nm, wobec buforu PBS.

Oznaczenie zdolności przeciwutleniającej

Do 5 ml przygotowanego roztworu ABTS⁺ dodano 50 µl ekstraktów związków fenolowych w czterech rozcieńczeniach. Pomiaru dokonano po 6 minutach inkubacji w łaźni wodnej w temperaturze 30°C, przy długości fali 734 nm, wobec buforu fosforanowego. Dla każdej próby wykonano po trzy powtórzenia. Zdolność przeciwutleniającą wyrażono w µmol Troloxu /100 ml roztworu koncentratu.

3. WYNIKI I DYSKUSJA

W Tabeli 3 zebrano średnie z uzyskanych wyników dla pola powierzchni chromatogramów HPLC dla fioletowych i żółtych barwników betalainowych, zawartości polifenoli oraz zdolności przeciwutleniającej. Analiza wariancji dla badanych wyróżników pozwoliła określić czynniki doświadczenia, które miały istotny wpływ na otrzymane rezultaty (Tab. 4).

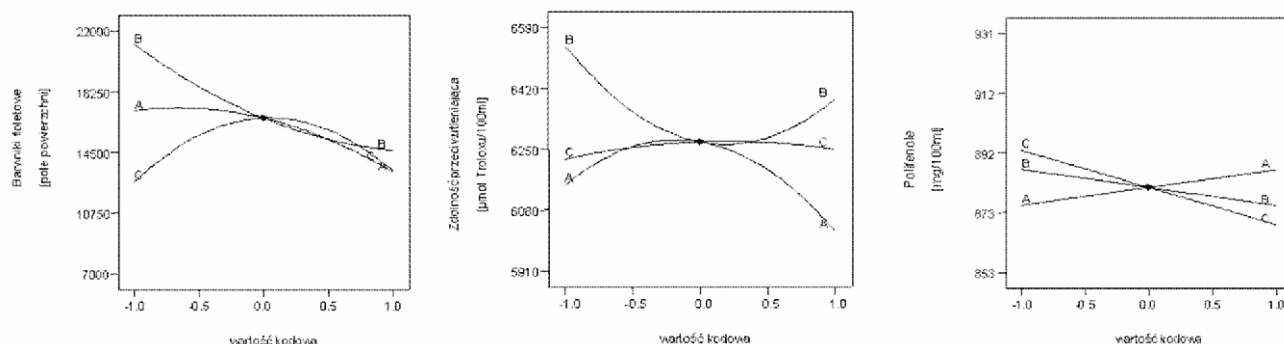
Na podstawie pola powierzchni pików stwierdzono, że w czasie ogrzewania nastąpiła degradacja fioletowych barwników betalainowych, zwiększająca się wraz ze wzrostem temperatury i czasu ogrzewania. W wyniku ogrzewania prób o pH 4,5 przez 120 min nastąpiło zmniejszenie powierzchni pików o 17,7% w temperaturze 70°C, zaś w temperaturze 90°C o 44%, czyli 2,5-krotnie więcej. Wpływ czasu ogrzewania na straty betacyjanów był wyższy niż wpływ temperatury ogrzewania. Według danych literaturowych betacyjaniny są stabilne podczas krótkotrwałego ogrzewania (do 3 min) w temp. 80°C [16]. Najwyższą stabilność fioletowych barwników betalainowych stwierdzono przy pH 4,5 (Rys. 1). Jak wskazują dane literaturowe, pH zbliżone do 5 gwarantuje najwyższą stabilność fioletowych barwników betalainowych w czasie ogrzewania [17].

Pole powierzchni pików dla barwników żółtych zwiększało się wraz ze wzrostem temperatury i czasu ogrzewania. Na podstawie współczynników równań stwierdzono, że największy wpływ na ten wyróżnik miało współdziałanie wysokiej temperatury oraz pH. Wzrost zawartości betaksantyn należy tłumaczyć powstawaniem produktów degradacji betalain, wykazujących maksimum absorbancji w podobnym zakresie fali, co wulgaksantyny.

Tabela 3 Wartości odpowiedzi dla badanych wyróżników roztworów koncentratu soku z buraka ćwikłowego po ogrzewaniu
Table 3 Values of response for investigated features of solutions of red beet juice concentrate after heating

Numer próby*	Pole powierzchni – HPLC barwniki fioletowe	Pole powierzchni – HPLC barwniki żółte	Polifenole mg/100 ml	Zdolność antyoksydacyjna $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ ml}$
1	10484	3632	855	5913
2	18150	3232	859	6427
3	13663	4116	869	6281
4	7602	4437	931	5993
5	10170	4024	894	6466
6	19460	3333	898	6371
7	16846	3551	881	6194
8	16948	3352	883	6300
9	16798	3520	895	6382
10	16553	3594	873	6181
11	11382	2915	853	6246
12	16024	3199	878	6247
13	10824	2719	869	6168
14	15941	3578	881	6297
15	19464	3335	905	6332
16	17373	3219	879	6581
17	14458	3408	869	6025

*numeracja zgodna z planem doświadczenia (Tab. 2)



Rysunek 1 Przekroje przez pole powierzchni odpowiedzi dla zmian pola powierzchni pików barwników fioletowych, zdolności przeciwutleniającej oraz zawartości polifenoli podczas ogrzewania roztworów koncentratu soku z buraka ćwikłowego przy kodowych wartościach pozostałych zmiennych równych 0. Oznaczenia: A – temperatura ogrzewania, B – czas ogrzewania, C – pH

Figure 1 Cross-sections through response surfaces for changes of peak area of violet pigments, antioxidant activity and polyphenols concentration during heating of solutions of red beet concentrate at the code value of the remaining variables equaling 0. Designations: A – temperature, B – time, C – pH

Zawartość polifenoli w roztworze koncentratu soku z buraka ćwikłowego nie poddanego ogrzewaniu kształtowała się na poziomie 859, 902, 879 mg/100 ml odpowiednio dla pH 3; 4,5 i 6,0. Dominującym związkem jest kwas ferulowy i jego glikozydowe pochodne, których stężenie jest zróżnicowane w zależności od odmiany buraka [9, 18]. Sam proces ogrzewania nie miał istotnego wpły-

wu na zmianę zawartości polifenoli w badanych próbach. Niewielki, ale jednak istotny wpływ odnotowano dla pH i interakcji tej zmiennej z temperaturą ogrzewania. Wraz ze wzrostem wartości pH następowało zmniejszenie się zawartości polifenoli, zwłaszcza w wyższej temperaturze. Należy tu jednak podkreślić, że oznaczanie polifenoli metodą z odczynnikiem Folina jest mało selektywne.

W metodzie tej oznaczane są jednocześnie białka, witaminy, alkaloidy, również betalainy, stąd zmierzony wyniki mogą przedstawiać zawartość różnych związków o charakterze redukującym [19]. Wykazano istotną dodatnią korelację ($R=0,64$) pomiędzy zawartością barwników betacyjanowych, a zdolnością przeciwutleniającą. Podobnie jak w przypadku fioletowych barwników betalainowych, odnotowano istotny ujemny wpływ temperatury i czasu ogrzewania na zdolność przeciwutleniającą.

Dla wszystkich badanych odpowiedzi uzyskano dopasowanie dla płaszczyzny drugiego stopnia oraz wysokie wartości R^2 dla wartości przewidzianych, co wskazuje na dobre dopasowanie równań (Tab. 4).

4. PODSUMOWANIE

Największą stabilność barwników betalainowych w modelowych roztworach koncentratu soku z buraka ćwikłowego stwierdzono w próbach o pH 4,5. Na zmianę zawartości barwników naj-

wiekszy wpływ miała temperatura i czas ogrzewania oraz interakcje między nimi. Na zawartość polifenoli istotnie wpływało pH roztworów, a na zdolność przeciwutleniającą temperatura ogrzewania. Zaobserwowano istotną statystycznie ($p<0,05$) dodatnią korelację pomiędzy zawartością barwników betalainowych, a zdolnością przeciwutleniającą badanych prób.

Dla otrzymania produktu o najlepszych właściwościach bioaktywnych należy ograniczyć czas obróbki soku z buraka ćwikłowego w wysokiej temperaturze i obniżyć jego pH. Pozwala to zmniejszyć straty barwników betacyjanowych i zachować wysoką aktywność przeciwutleniającą soków i napojów otrzymanych z koncentratu soku z buraka ćwikłowego. Korzystne rezultaty można otrzymać mieszając sok buraczany z sokami owocowymi, dzięki czemu kwasowość produktu zwiększa się, a smak ulega poprawie.

Badania wykonano w ramach projektu „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”, PO IG 01.01.02-00-061/09 realizowanego w 2010-2014 .

Tabela 4 Charakterystyka równań powierzchni odpowiedzi dla badanych wyróżników roztworu koncentratu soku z buraka ćwikłowego po ogrzewaniu

Table 4 Characteristics of response surface equations for investigated features of solutions of red beet concentrate after heating

Parametr	Czynnik doświadczalny									Model	Istotność testu F	R^2
	Wyraz wolny	A	B	C	A*B	A*C	A ²	B ²	C ²			
Barwniki fioletowe	16617	-1903	-3255		-1300		-1445	1271	-3620	2	0,0001	0,978
Barwniki żółte	3518					-378		-461		2	0,023	0,827
Polifenole	880			-12		-19		1271	-2620	2	0,0424	0,672
Zdolność przeciwutleniająca	6271	-64	-73				-184	192		2	0,0075	0,905

W tabeli podano wartości współczynników istotnych na poziomie ufności $p<0,05$;

Objaśnienia: A – temperatura ogrzewania, B – czas ogrzewania, C – pH

LITERATURA

- [1] Kunachowicz H., Nadolna I., Przygoda B., Iwanow K., Tabele składu i wartości odżywczej żywności, PZWL, Warszawa, 2005.
- [2] Jägerstad M., Pirogen V., Walker C., Ros G., Carnovale E., Holasova M., Nau H., Increasing natural food folates through bioprocessing and biotechnology. Trends Food Sci. Technol., 16, 2005, 298-306.

- [3] Klewicka E., Czyżowska A., Biological stability of lactofermented beetroot juice during refrigerated storage. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 61, No 4, 2011, 251-256.
- [4] Nemzer B., Pietrzkowski Z., Spórna A., Stalica P., Thresher W., Michałowski T., Wybraniec S., Beta-lainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris L.*) dried extracts. *Food Chem.*, 127, 2011, 42-53.
- [5] Sembries S., Dongowski G., Mehrländer F., Will F., Dietrich H., Physiological effects of extraction juices from apple, grape and red beet pomaces in rats. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 2006, 10269-10280.
- [6] Czyżowska A., Klewicka E., Libudzisz Z., The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants. *Eur. Food Res. Technol.*, 223, 2006, 110-116.
- [7] Gandía-Herrero F., García-Carmona F., Characterization of recombinant *Beta vulgaris* 4,5-DOPA-extradiol-dioxygenase active in the biosynthesis of betalains. *Planta.*, 236, 2012, 91-100.
- [8] Czapski J., Mikołajczyk K., Kaczmarek M., Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of its betalain pigments. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 59(2), 2009, 119-122.
- [9] Kujala T. S., Loponen J. M., Klika K. D., Pihlaja K., Phenolics and Betacyanins in red Beetroot (*Beta vulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Tree Individual Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2000, 5338 -5342.
- [10] Sreeramulu D., Raghunath M., Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Res. Internat.*, 43, 2010, 1017-1020.
- [11] Rivera-Espinoza Y., Gallardo-Navarro Y., Non-dietary probiotic products. *Food Microbiol.*, 2010, 27, 1-11.
- [12] Kidoń M., Czapski J., Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. *Żyw. Nauka Tech. Jakość.*, 1(50), 2007, 124-131.
- [13] Stintzing F. C., Carle R., Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends Food Sci. Technol.*, 2004, 15, 19-38.
- [14] Fang Z., Zhang M., Sun Y., Sun J., How To Improve Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) Juice Color Quality: Effect of juice processing on bayberry anthocyanins and polyphenolics. *J. Agric. Food Chem.*, 54(1), 2006, 99-106.
- [15] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 9/10, 1999, 1231-1237.
- [16] Havlikova L., Mikova K., Kyzlink V., Heat stability of betacyanins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1983, 177, 247-270.
- [17] Saguy I., Kopelman I. J., Mizrahi S., Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 26, 1978, 360-362.
- [18] Kazimierczak R., Hallmann E., Treščinska V., Rembiałkowska E., Estimation of the nutritive value of two red beet (*Beta vulgaris*) varieties from organic and conventional cultivation. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, 56 (3), 2011, 206-210.
- [19] Kusznierevicz B., Wolska L., Bartoszek A., Namieśnik J., Charakterystyka polifenoli: występowanie, właściwości, przegląd metod analitycznych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1, 2005, 81-92.