INSTYTUT ROZRODU ZWIERZĄT I BADAŃ ŻYWNOŚCI PAN
W OLSZTYNIE

ul.Tuwima 10, 10-748 Olsztyn, tel.: (+48 89) 523-46-86; 524-03-13
Fax (+48 89) 524-01-24; e-mail: instytut@pan.olsztyn.pl; www.pan.olsztyn.pl

Raport z badania profilu i zawartości związków biologicznie aktywnych (kwasów fenolowych, flawonoidów, karotenoidów, antocyjanów, związków kwercetyny, lotnych związków siarki, betalain, wit. B, C, D i E, kwasów tłuszczowych), mikro i makroelementów oraz właściwości przeciwutleniających w surowych mieszankach kaszowo-warzywnych oraz po ich ugotowaniu lub zaparzeniu

I. Wstęp.

Dostępne wyniki badań naukowych dowodzą, że o właściwościach prozdrowotnych produktów spożywczych decyduje ich zasobność w substancje biologicznie aktywne. Do grupy tych substancji możemy zaliczyć szereg grup fitozwiązków, w tym za szczególnie istotne z żywieniowego punktu widzenia uważa się kwasy fenolowe, flawonoidy, karotenoidy, antocyjany, związki kwercetyny, lotne związki siarki, betalainy, kwasy tłuszczowe oraz witaminy B, C, D i E. Niezbędne są również mikro i makroelementy. Wymienione składniki mogą decydować o potencjale biologicznym produktów spożywczych, który jest opisywany między innymi przez właściwości przeciwutleniające mierzone różnymi metodami, w tym PCL ACW, PCL ACL, ORAC i FRAP.

Oprócz charakterystyki surowców spożywczych pod względem wyjściowej zawartości wspomnianych składników oraz właściwości przeciwutleniających niezbędnym jest również określenie tych parametrów w produktach poddanych procesom przygotowującym do spożycia (np. gotowaniu, zaparzaniu). Ma to istotne znaczenie ponieważ stosowane procesy mogą powodować zmianę profilu i zawartości fitozwiązków pod wpływem czynników środowiskowych, tj. temperatury, zmian odczynu środowiska, światła i tlenu.

II. Materiał.

Materiałem do badań dostarczonym przez zamawiającego były następujące mieszanki kaszowo-warzywne: kasza bulgur z suszonymi warzywami, kasza orkiszowa z soczewicą i suszonymi warzywami, Vege kubek - kasza gryczana z suszonymi warzywami i Vege kubek - kasza jaglana z suszonymi warzywami.

Analizom profilu i zawartości związków biologicznie aktywnych (kwasów fenolowych, flawonoidów, karotenoidów, antocyjanów, związków kwercetyny, lotnych związków siarki, betalain, wit. B, C, D i E, kwasów tłuszczowych), mikro i makroelementów oraz właściwości przeciwutleniających poddano wymienione powyżej surowe mieszanki kaszowo-warzywno oraz po procesie gotowania lub zaparzania zgodnie z recepturą przedstawioną przez zamawiającego na etykietach. Przed analizą uzyskane próby zliofilizowano.

III. Metody analityczne wykorzystane w badaniach.

Analizy profilu i zawartości związków biologicznie aktywnych, zawartości mikro i makroelementów oraz właściwości przeciwutleniających przeprowadzono według poniżej przedstawianej metodologii.

1. Badanie profilu i zawartości antocyjanów.

Ekstrakcję i analizę antocyjanów przeprowadzono według metody Wiczkowskiego i wsp. (2013).

Próbki o masie około 0,2 g były ekstrahowane w próbkach typu Eppendorf mieszaniną metanolu/wody/kwasu trifluorooctowego (79,8/19,8/0,4; v/v) z wykorzystaniem dezintegratora ultradźwiękowego (VC 750, Sonics & Materials, USA). W tym celu do materiału dodawano 1 mL mieszaniny ekstrakcyjnej, następnie prowadzono wytrząsanie na wytrząsarce typu vortex przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) i ponownie poddawano działaniu ultradźwięków przez 30 s. Wytrząsanie i obróbkę próbki przy wykorzystaniu ultradźwięków prowadzono trzykrotnie. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 10 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a uzyskane supernatanty zbierano do 5 mL kolbek miarowych. Procedurę ekstrakcji powtarzano 5 razy, a uzyskane ekstrakty po doprowadzeniu do objętości 5 mL przechowywano w temperaturze -80°C do czasu oczyszczenia i analizy.

Przed naniesieniem do systemu HPLC-DAD próbki rozpuszczone w 100 µL 50% metanolu zawierającego 0,95% kwasu mrówkowego, worteksowano (30 s) i poddano działaniu ultradźwięków (30 s), a następnie odwirowano (20 min, 13 200 × g, 4°C). Profil i zawartość antocyjanów analizowano za pomocą systemu LC-20 Prominence (Shimadzu, Japonia) składającego się z kontrolera CBM-20A, dwóch pompy LC-20AD$_{VP}$, detektora DAD SPD-M20A pracującego przy długości fali 520 nm, autosamplera SIL-20AC$_{HT}$ nanoszącego na kolumnę 5 µL próbki oraz pieca do kolumn chromatograficznych CTO-20 AS$_{VP}$. Optymalny rozdział antocyjanów uzyskano wyniku zastosowania termostatowanej (45°C) kolumny chromatograficznej C18 o wymiarach 2,1 x 150 mm i uziarnieniu 3,5 µm (xBridge, Waters, USA) i przepływie fazy ruchomej 0,2 mL/min. Wykorzystano metodę elucji w gradiencie dwufazowym, faza A: woda/kwas mrówkowy (0,94/0,06) i faza B: acetonitryl/kwas mrówkowy (0,94/0,06). Zastosowano gradient stężeń: 3-17-80-3-3% fazy B w gradiencie czasu: 0-77-80-84-105 min. Związki identyfikowano na podstawie czasu retencji i widm UV-Vis. Analizę ilościową przeprowadzono na podstawie liniowych krzywych kalibracyjnych wzorców zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

2. Badanie profilu i zawartości flawonoidów i kwasów fenolowych.

Ekstrakcję i analizę flawonoidów i kwasów fenolowych przeprowadzono według metody Płatosz i wsp. (2020).

Próbki o masie 0,3 g były ekstrahowane w próbkach typu Eppendorf mieszaniną metanolu/wody/kwasu mrówkowego (0.80/0.195/0.005 v/v/v) z wykorzystaniem dezintegratora ultradźwiękowego (VC 750, Sonics & Materials, USA). W tym celu do materiału dodawano 1 mL mieszaniny ekstrakcyjnej, następnie prowadzono wytrząsanie na wytrząsarce typu vortex przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) i ponownie poddawano działaniu ultradźwięków przez 30 s. Wytrząsanie i obróbkę próbki przy wykorzystaniu ultradźwięków prowadzono trzykrotnie. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 10 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a uzyskane supernatanty zbierano do 5 mL kolbek miarowych. Procedurę ekstrakcji powtarzano 5 razy, a uzyskane ekstrakty po doprowadzeniu do objętości 5 mL przechowywano w temperaturze -80°C do czasu oczyszczenia i analizy.

Po odparowaniu uzyskanych ekstraktów do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 30°C, powstały osad rozpuszczono w wodzie redystylowanej o pH 2 poprzez wytrząsanie przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) i działanie ultradźwięków (VC 750, Sonics& Materials, USA). Następnie wolne fitozwiązki ekstrahowano eterem dietylowym (2 mL) poprzez trzykrotne wytrząsanie przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) przez 30 sekund i trzykrotne działanie ultradźwięków (VC 750, Sonics& Materials, USA) przez 30 sekund. Po odwirowaniu (GS-15R Centrifuge, Beckman, USA) przez 10 minut w temperaturze 4°C z siłą 4000 x *g*, zbierano wydzieloną warstwę eterową. Procedurę ekstrakcji eterem dietylowym powtarzano trzykrotnie. Następnie warstwy eterowe połączono i odparowywano do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 30°C. Wysuszone próby przechowywano w temperaturze -80°C do czasu analizy. Pozostałe, wodne ekstrakty pozostawiono na około 15 minut w atmosferze azotu w celu usunięcia resztek eteru dietylowego, a następnie poddano hydrolizie zasadowej.

Próby ekstraktów wodnych po wyodrębnieniu wolnych form flawonoidów i kwasów fenolowych po doprowadzaniu do temperatury pokojowej poddano hydrolizie zasadowej. Po dodaniu do prób 4 M NaOH (1 mL) prowadzono hydrolizę w atmosferze azotu przez 4 godziny z mieszaniem próby przy użyciu mieszadła magnetycznego. Po zakończeniu hydrolizy próby doprowadzono do pH 2 przy użyciu 6 M roztworu HCl monitorując zmiany odczynu pH-metrem (Radiometer PHM85, Dania). Uwolnione z wiązań estrowych wolne formy fitozwiązków ekstrahowano eterem dietylowym (2 mL) poprzez trzykrotne wytrząsanie przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) przez 30 sekund i trzykrotne działanie ultradźwięków (VC 750, Sonics& Materials, USA) przez 30 sekund. Po odwirowaniu (GS-15R Centrifuge, Beckman, USA) przez 10 minut w temperaturze 4°C z siłą 4000 x *g* zbierano wydzieloną warstwę eterową. Procedura ekstrakcji eterem dietylowym powtarzano trzykrotnie. Zebrane warstwy eterowe łączono, a następnie odparowywano do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 30°C. Wysuszone próbki przechowywano w temperaturze -80°C do czasu analizy. Pozostałe, wodne ekstrakty pozostawiono na około 15 minut w atmosferze azotu w celu usunięcia resztek eteru dietylowego, a następnie poddano hydrolizie kwasowej.

Próbki wodnych ekstraktów po hydrolizie zasadowej i doprowadzeniu do temperatury pokojowej poddano hydrolizie kwasowej. Po ustaleniu objętość ekstraktów dodano stężony HCl tak aby stężenie końcowe kwasu w mieszaninie wynosiło 2 M. Po wymieszaniu prób przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) prowadzono hydrolizę kwasową w temperaturze 100°C przez 1 godzinę. Po zakończeniu procesu hydrolizy próbki ostudzono do temperatury pokojowej i doprowadzono do pH 2 przy pomocy 4 M roztworu NaOH monitorując zmiany odczynu pH-metrem (Radiometer PHM85, Dania). Uwolnione z wiązań glikozydowych wolne formy fitozwiązków ekstrahowano eterem dietylowym (2 mL) poprzez trzykrotne wytrząsanie przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) przez 30 sekund i trzykrotne działanie ultradźwięków (VC 750, Sonics& Materials, USA) przez 30 sekund. Po odwirowaniu (GS-15R Centrifuge, Beckman, USA) przez 10 minut w temperaturze 4℃ z siłą 4000 x *g* zbierano wydzieloną warstwę eterową. Procedurę ekstrakcji eterem dietylowym powtarzano trzykrotnie. Zebrane warstwy eterowe łączono, a następnie odparowywano do sucha w atmosferze azotu w temperaturze 30°C. Wysuszone próbki przechowywano w temperaturze -80°C do czasu analizy.

Uzyskane w ramach poszczególnych ekstrakcji osady rozpuszczono w roztworze metanolu/wody/kwasu mrówkowego (80/19,9/0,1; v/v/v) przy użyciu vortex-u (Genie 2, Scientific Industries, USA) przez 30 sekund i ultradźwięków (VC 750, Sonics & Materials, USA) przez 30 sekund. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 20 minut w

temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy) a uzyskane supernatanty poddano analizie HPLC-MS/MS.
Analizę flawonoidów i kwasów fenolowych przeprowadzono z użyciem systemu mikro-HPLC (LC200, Eksigent, Kanada) sprzężonego z spektrometrem masowym QTRAP 5500 (AB SCIEX, Kanada) wyposażonym w źródło jonów typu ESI, potrójny kwadrupol i pułapkę jonową. System analityczny pracował w następujących warunkach: jonizacja negatywna, gaz kurtynowy: 30 L/min, gaz kolizyjny: 9 L/min, napięcie jono-spreju: -4500 V, temperatura: 350°C, gaz źródła jonów 1: 35 L/min, gaz źródła jonów 2: 30 L/min, potencjał deklasteringu: -80 ÷-120 V, potencjał wejścia: -10 V, energia kolizji: -30 ÷ -50 eV, potencjał kolizyjny na wyjściu z komory: -10 ÷ -25 V. Rozdział flawonoidów i kwasów fenolowych realizowano na kolumnie analitycznej Halo C18, 2,7 µL, 50 x 0,5 mm (Eksigent, Kanada) w temperaturze 45°C i przy przepływie fazy ruchomej 20 µL/min. Analizy przeprowadzono metodą elucji w gradiencie dwufazowym: faza A (0,9% wodny roztwór kwasu mrówkowego) i faza B (0,9% acetonitrylowy roztwór kwasu mrówkowego). Zastosowano następujący gradient stężeń: 1-1-90-90-1-1% fazy B w gradiencie czasu 0-0,1-2-2,5-2,7-3 min. Fitozwiązki identyfikowano na podstawie czasu retencji i charakterystycznych par jonów: jon pseudomolekularny – jon fragmentacyjny (MRM). W oparciu o metodę MRM przeprowadzono analizę ilościową wobec wzorców zewnętrznych. Ekstrakcja, hydroliza i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

3. Badanie profilu i zawartości związków kwercetyny.
Ekstrakcję i analizę związków kwercetyny przeprowadzono według metody Wiczkowskiego i wsp. (2014).
Próbki o masie około 0,3 g były ekstrahowane w próbkach typu Eppendorf mieszaniną metanolu/wody/kwasu mrówkowego (0.80/0.197/0.003 v/v/v) z wykorzystaniem dezintegratora ultradźwiękowego (VC 750, Sonics & Materials, USA). W tym celu do materiału dodawano 1 mL mieszaniny ekstrakcyjnej, następnie prowadzono wytrząsanie na wytrząsarce typu vortex przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) i ponownie poddawano działaniu ultradźwięków przez 30 s. Wytrząsanie i obróbkę próbki przy wykorzystaniu ultradźwięków prowadzono trzykrotnie. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 10 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a uzyskane supernatanty zbierano do 5 mL kolbek miarowych. Procedurę ekstrakcji powtarzano 5 razy, a uzyskane ekstrakty po doprowadzeniu do objętości 5 mL przechowywano w temperaturze -80°C do czasu analizy.
Uzyskane ekstrakty odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 20 minut w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy) i poddano analizie HPLC-MS/MS. Analizę związków kwercetyny przeprowadzono z użyciem systemu mikro-HPLC (LC200, Eksigent, Kanada) sprzężonego z spektrometrem masowym QTRAP 5500 (AB SCIEX, Kanada) wyposażonym w źródło jonów typu ESI, potrójny kwadrupol i pułapkę jonową. System analityczny pracował w następujących warunkach: jonizacja negatywna, gaz kurtynowy: 30 L/min, gaz kolizyjny: 9 L/min, napięcie jono-spreju: -4500 V, temperatura: 350°C, gaz źródła jonów 1: 35 L/min, gaz źródła jonów 2: 30 L/min, potencjał deklasteringu: -90 ÷-100 V, potencjał wejścia: -10 V, energia kolizji: -35 ÷ -45 eV, potencjał kolizyjny na wyjściu z komory: -15 ÷ -25 V. Rozdział związków realizowano na kolumnie analitycznej Halo C18, 2,7 µL, 50 x 0,5 mm (Eksigent, Kanada) w temperaturze 45°C i przy przepływie fazy ruchomej 20 µL/min. Analizy przeprowadzono metodą elucji w gradiencie dwufazowym: faza A (0,9% wodny roztwór kwasu mrówkowego) i faza B (0,9% acetonitrylowy roztwór kwasu mrówkowego). Zastosowano następujący gradient stężeń: 1-1-90-90-1-1% fazy B w gradiencie czasu 0-0,1-2-2,5-2,7-3 min. Związki kwercetyny identyfikowano na podstawie

czasu retencji i charakterystycznych par jonów: jon pseudomolekularny – jon fragmentacyjny (MRM). W oparciu o metodę MRM przeprowadzono analizę ilościową wobec wzorców zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

4. Badanie profilu i zawartości karetonoidów.

Ekstrakcję i analizę antocyjanów przeprowadzono według metody Jeż i wsp. (2020).
Do około 1 g próby umieszczonej w 15 mL probówce dodano 1,5 mL mieszaniny heksanu:acetonu:alkoholu absolutnego:toluenu (10:7:6:7, v/v/v/v), 0,1mL standardu wewnętrznego o stężeniu 1 mg/mL (β-Apo-8'-karotenal) i wymieszano. Następnie dodano 1 mL 40% roztworu metanolowego KOH, wymieszano i pozostawiono do saponifikacji na 16 h, wytrząsając na termomixerze w temperaturze 20°C z 1400 rpm. Po zakończeniu saponifikacji do mieszaniny dodano 0,5 mL 10% roztworu Na_2SO_4 i wymieszano, a uwolnione karotenoidy ekstrahowano 3 mL heksanu. Fazę zawierającą barwniki karotenoidowe oddzielono, a ekstrakcję pozostałości powtarzano dwukrotnie. Po ekstrakcji rozpuszczalnik odparowano a pozostałość rozpuszczono w 1 mL mieszaniny metanolu:dichlorometanu (45:55, v/v). Po odwirowaniu (4°C, 13200 rpm, 20 min) próbkę poddano analizie HPLC-DAD. Do analizy wykorzystano zestaw wysokosprawnej chromatografii cieczowej LC-20 Prominence (Shimadzu, Japonia) składającego się z kontrolera CBM-20A, dwóch pompy LC-20AD$_{VP}$, detektora DAD SPD-M20A, autosamplera SIL-20AC$_{HT}$ nanoszącego na kolumnę 5 μL próbki oraz pieca do kolumn chromatograficznych CTO-20 AS$_{VP}$. Rozdział prowadzono na kolumnie YMC C30, 3 μm, 250 mm × 2,1 mm, w temperaturze 30°C, przy przepływie 0,2 mL/min, z zastosowaniem następującego gradientu stężeń: 5-5-28-95-5-5% MTBE (methyl-tertbutylether) w metanolu, w gradiencie czasu 0-5-25-33-40-60 min. Detekcję karotenoidów prowadzono przy długości fali 450 nm. Identyfikację karotenoidów przeprowadzono na podstawie czasów retencji i widm UV-Vis standardów zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

5. Analiza zawartości witaminy E.

Ekstrakcję i analizę witaminy E (jako suma tokoferoli (α-T, β-T, γ-T, δ-T) i tokotrienoli (α-T3, β-T3, γ-T3)) przeprowadzono według metody Zielińskiego i wsp. (2007).
W celu przygotowania ekstraktów odważono 0,3 g zliofilizowanych prób, dodano 1 mL 100% metanolu i ekstrahowano poprzez 3-krotne, naprzemienne mieszanie na wytrząsarce laboratoryjnej typu Genie-2 (Scientific Industries, USA) (30 s) oraz poddanie działaniu ultradźwięków w dezintegratorze ultradźwiękowym typu VC 750 (Sonics and Materials, USA) (30 s). Następnie próby zostały odwirowane w wirówce typu 5415 R (Eppendorf, Niemcy) z siłą 16100 x *g* przez 10 minut w temperaturze 4°C. Ekstrakcja została powtarzana 3-razy a połączone supernatanty zostały odparowane do sucha w atmosferze azotu. Przed analizą, powstały osad został rozpuszczony w 50 μL acetonitrylu, a następnie odwirowany w temperaturze 4°C z siłą 16100 x *g*. Rozdział poszczególnych tokoferoli i tokotrienoli przeprowadzony został przy użyciu systemu HPLC UltiMate 3000 firmy Dionex wyposażonego w detektor fluorescencyjny. Do rozdziału wykorzystana została kolumna C18 Kinetex firmy Phenomenex 100A (2,6 μm) o wymiarach 75 x 3mm. Chromatogram rozwijany był w układzie gradientowym stosując jako fazę ruchomą wodę z 0,1% dodatkiem kwasu mrowkowego (v/v) (faza A) i acetonitryl z 0,1% dodatkiem kwasu mrowkowego (v/v) (faza B), przy przepływie 0,3 uL/min w temperaturze 45 °C. Zastosowano gradient: 0 – 10 min 90% fazy B, 10 – 11 min 100% fazy B, 11 - 15 min 90% fazy B. Nastrzyk próby wynosił 20 uL. Detekcja prowadzona była przy długości fali wzbudzenia λ=295 nm i długości fali emisji λ=340 nm. Identyfikację i obliczenia zawartości poszczególnych tokoferoli i

tokotrienoli przeprowadzono na podstawie czasów retencji i krzywych standardów zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

6. Badanie profilu i zawartości kwasów tłuszczowych.

Ekstrakcję i analizę kwasów tłuszczowych przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Fotschki i wsp. (2020).

Próbki o masie około 100 mg ekstrahowano 1 ml mieszaniny metanol/eter tert-butylowo-metylowy/woda (1/3/1, v/v/v). Po ekstrakcji w łaźni ultradźwiękowej (3 min, 4°C) dodano 0,5 ml mieszaniny metanol/woda (1/3, v/v), worteksowano przez 30 s i zebrano utworzoną fazę lipidową. Etap powtórzono dwukrotnie, zebrane fazy połączono, a następnie odparowano do sucha w atmosferze azotu. Otrzymaną pozostałość rozpuszczono w 0,2 ml metanolu/6% KOH (4/1, v/v) i hydrolizowano w ciągu 2 godzin w temperaturze 60°C z ciągłym wytrząsaniem przy użyciu termomiksera (1400 obr./min; Termomixer comfort, Eppendorf, Niemcy), następnie dodano 0,1 ml NaCl (roztwór nasycony) i 0,05 ml 29% HCl. Kwasy tłuszczowe (związki uwolnione z form związanych) ekstrahowano 3 razy 2 ml mieszaniny chloroform/heptan (1/4, v/v) w oparciu o ultradźwieki i worteksowanie (3 x 30 s), a zebrane fazy organiczne połączono, odparowano do suchość w atmosferze azotu i przechowywano w -80°C do czasu analizy. Ekstrakcję wolnych form kwasów tłuszczowych przeprowadzono zgodnie w/w procedurą z wyłączeniem etapu hydrolizy.

Przed analizą próbki rozpuszczono w 0,1 ml metanolu i odwirowano (4°C, 13200 x *g*, 20 min). Oznaczenie profilu i zawartości kwasów tłuszczowych przeprowadzono za pomocą systemu mikro-HPLC-MS/MS (Sciex, USA) składającego się z pompy dwukanałowej, pieca kolumnowego, autosamplera, kontrolera systemu oraz spektrometru masowego 5600^{+} QTOF. Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie HALO C18 (2,7 µm, 0,5 x 50 mm; Eksigent, USA) w 60°C i przy szybkości przepływu 15 µl/min. Zastosowano mieszaniny elucyjne A (woda/0,5 M mrówczan amonu/kwas mrówkowy, 98,9/1/0,1 v/v/v/v) i B (acetonitryl/0,5 M mrówczan amonu/izopropanol/kwas mrówkowy, 68,9/1/30/ 0,1, v/v/v/v) w następującym schemacie gradientowym: 30-30-90-90-30-30% w 0-0,5-1,8-2,8-3-5 min. Zastosowano następujące warunki MS QTOF: jonizacja ujemna, gaz osłonowy: 25 l/min, napięcie źródła rozpylania jonów: -4500 V, temperatura: 350°C, gaz nebulizatora 1: 35 l/min, gaz turbo: 30 l/ min, DP: -90/-100 V, CE: -25/-50 V, CES: 15 V. Kwasy tłuszczowe identyfikowano na podstawie czasów retencji i widm MS/MS wzorców. Analizę ilościową przeprowadzono wobec wzorców zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

7. Badanie profilu i zawartości betalain.

Ekstrakcję i analizę betalain przeprowadzono według metody Sawickiego i wsp. (2016).

Próbki o masie około 0,2 g były ekstrahowane w próbkach typu Eppendorf mieszaniną metanolu/wody/kwasu mrówkowego (0.845/0.15/0.005 v/v/v) z wykorzystaniem dezintegratora ultradźwiękowego (VC 750, Sonics & Materials, USA). W tym celu do materiału dodawano 1 mL mieszaniny ekstrakcyjnej, następnie prowadzono wytrząsanie na wytrząsarce typu vortex przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) i ponownie poddawano działaniu ultradźwięków przez 30 s. Wytrząsanie i obróbkę próbki przy wykorzystaniu ultradźwięków prowadzono trzykrotnie. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 10 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a uzyskane supernatanty zbierano do 5 mL kolbek miarowych. Procedurę ekstrakcji powtarzano 5 razy, a uzyskane ekstrakty po doprowadzeniu do objętości 5 mL przechowywano w temperaturze -80°C do czasu oczyszczenia i analizy.

Przed naniesieniem do systemu HPLC-DAD ekstrakty odwirowywano (20 min, 13200 × *g*, 4°C). Betalainy analizowano za pomocą systemu LC-20 Prominence (Shimadzu, Japonia) składającego się z kontrolera CBM-20A, dwóch pompy LC-20AD$_{VP}$, detektora DAD SPD-M20A pracującego przy długości fali 540 i 476 nm, autosamplera SIL-20AC$_{HT}$ nanoszącego na kolumnę 5 µL próbki oraz pieca do kolumn chromatograficznych CTO-20 AS$_{VP}$. Optymalny rozdział betalain uzyskano wyniku zastosowania termostatowanej (45°C) kolumny chromatograficznej C18 o wymiarach 2,1 x 150 mm i uziarnieniu 3,5 µm (xBridge, Waters, USA). Wykorzystano metodę elucji w gradiencie dwufazowym przy przepływie 0,2 mL/min: faza A: 1% kwasu mrówkowego w wodzie, faza B: 1% wody w acetonitrylu. Zastosowano gradient stężeń: 0-17-75-0-0% fazy B w gradiencie czasu: 0-77-84-89-105 min. Związki identyfikowano na podstawie czasu retencji i widm UV-Vis. Oznaczenie ilościowe przeprowadzono na podstawie krzywej kalibracyjnej wzorca zewnętrznego betaniny. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

8. Badanie profilu i zwartości związków lotnych.

Ekstrakcję i analizę związków lotnych przeprowadzono według metody Starowicz i wsp. (2019).

Związki lotne były ekstrahowane techniką mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). W tym celu próbki o masie około 1 g były umieszczane w 20 mL probówkach, zamykane silikonową septą i wytrząsane z 550 rpm (Eppendorf, Germany), przez 45 min, w temperaturze 40°C. Następnie, związki lotne były ekstrahowane na włóko SPME (diwinylbenzeno- karbokseno-polidimetylsiloksanowe, DVB/CAR/PDMS, Supelco, USA) przez 15 min w temperaturze 40°C, bez wytrząsania.

Jako metodę rozdziału i identyfikacji zastosowano chromatografię gazową połączoną ze spektrometrią mas (7890A GC - 5975C VL MSD MS, Agilent Technologies, USA). Po etapie ekstrakcji włókno wprowadzano manualnie do portu chromatograficznego, gdzie związki były desorbowane z włókna w temperaturze 250°C przez 5 min, a następnie transferowane na kolumnę kapilarną (DB-WAX, 30 m, 0.25 mm x 0.50 µm, Agilent Technologies, USA). Temperatura początkowa pieca chromatografu była zaprogramowana na 40°C i utrzymywana przez 5 min. Następnie temperaturę zwiększono do 200°C i utrzymywana przez 1 min. Finalnie temperatura pieca była ustawiona na 240°C i utrzymywana przez 5 min. Jako gaz nośny wykorzystywano hel z stałym przepływem 1 mL/min. Widma masowe rejestrowano w trybie oddziaływania elektronów 70 eV w zakresie skanowania 33-333. Związki lotne identyfikowano poprzez porównanie uzyskanych liniowych wskaźników retencji i widm masowych z dostępnymi bibliotekami widm spektralnych - the Wiley Registry 7th Edition Mass Spectral Library (Wiley and Sons Inc., Weinheim, Niemcy) i National Institute Standards and Technology (NIST) 2005 Mass Spectral Library. Liniowe wskaźniki retencji (LRI) zostały obliczone przy użyciu mieszanki n-alkenów C_6-C_{30} (Sigma-Aldrich, USA). Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

9. Badanie zawartości witaminy D.

Ekstrakcję i analizę witaminy D przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Ogawa i wsp. (2013).

Próbki o masie 0,3 g ekstrahowano trzykrotnie mieszaniną (2 mL) metanolu/MTBE/wody (1/3/1, v/v/v) z dodatkiem 0,1% BHT poprzez wytrząsanie na wytrząsarce typu vortex przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) i działanie ultradźwięków (VC 750, Sonics & Materials, USA) przez 30 s. Następnie próbki odwirowywano z siłą 3500 x *g* przez 5 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a powstałe fazy organiczne

połączono i odparowano w atmosferze azotu. Uzyskany osad rozpuszczono w 0,2 mL 40% KOH w MeOH i przeprowadzono 1 h hydrolizie w atmosferze azotu. Po hydrolizie przeprowadzono trzykrotną ekstrakcję mieszaniną wody (0,2 mL) i octan etylu/n-heptan (1/4, v/v, 1mL). Po wirowaniu zebrano fazę organiczną, którą odparowano w atmosferze azotu. Po odparowaniu do próby dodano 0,1ml roztworu DAPTAD rozcieńczonego octanem etylu. Po procesie derywatyzacji, prowadzonym w temperaturze pokojowej przez 60 min, dodano 0,02 mL MeOH i następnie przeprowadzono odparowywanie w atmosferze azotu.
Uzyskane osady rozpuszczono w mieszaninie 5 mM octan amonu w wodzie/5 mM octan amonu w acetonitrylu (1/5, v/v), odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 20 minut w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy) i poddano analizie HPLC-MS/MS. Do analizy wykorzystano system mikro-HPLC (LC200, Eksigent, Kanada) sprzężony z spektrometrem masowym QTRAP 5500 (AB SCIEX, Kanada) wyposażonym w źródło jonów typu ESI, potrójny kwadrupol i pułapkę jonową. System analityczny pracował w następujących warunkach: jonizacja pozytywna, gaz kurtynowy: 30 L/min, gaz kolizyjny: 9 L/min, napięcie jono-spreju: 5400 V, temperatura: 350°C, gaz źródła jonów 1: 35 L/min, gaz źródła jonów 2: 30 L/min, potencjał deklasteringu: 70÷100 V, potencjał wejścia: 10 V, energia kolizji: 10÷45 eV, potencjał kolizyjny na wyjściu z komory: 14÷18 V. Rozdział związków prowadzono na kolumnie analitycznej Halo C18, 2,7 µL, 100 x 0,5 mm (Eksigent, Kanada) w temperaturze 45°C i przy przepływie fazy ruchomej 15 µL/min. Analizy przeprowadzono metodą elucji w gradiencie dwufazowym: faza A (5 mM octan amonu w wodzie) i faza B (5 mM octan amonu w acetonitrylu). Zastosowano następujący gradient stężeń: 5-5-90-90-5-5% fazy B w gradiencie czasu 0-0,1-2-2,5-2,7-3 min. Witaminę D identyfikowano na podstawie czasu retencji i charakterystycznych par jonów: jon pseudomolekularny – jon fragmentacyjny (MRM). W oparciu o metodę MRM przeprowadzono analizę ilościową wobec wzorca zewnętrznego. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

10. Badanie zawartości witaminy C.

Ekstrakcję i analizę betalain przeprowadzono według zmodyfikowanej metody Esteve i wsp. (1997).
Próbki o masie około 0,5 g poddano pięciokrotnej ekstrakcji 1 mL 5% MPA (kwas metafosforowy) poprzez trzykrotne naprzemienne vorteksowanie przez 30 s (Genie-2, Scientific Industries, USA) i poddawanie działaniu ultradźwięków przez 30 s (VC 750, Sonics and Materials, USA). Następnie próbki odwirowano przez 10 min w temperaturze 4°C z siłą 12000 x *g*. Uzyskane ekstrakty połączono, wymieszano, ponownie odwirowano (20 min, 12000 x *g*, 4°C) i poddano analizie HPLC-DAD.
Analizę witaminy C przeprowadzono za pomocą systemu LC-10 (Shimadzu, Japonia) składającego się z kontrolera SCL-10A$_{VP}$, pompy LC-10AD$_{VP}$, detektora DAD SPD-M10A$_{VP}$ pracującego przy długości fali 254 nm, autosamplera SIL-10AD$_{VP}$ nanoszącego na kolumnę 5 µL próbki oraz pieca do kolumn chromatograficznych CTO-20AS$_{VP}$. Optymalny rozdział witaminy C uzyskano w temperaturze 45°C na kolumnie Scherzo SM-C18 150 x 3 mm, 3µm (Imtakt, USA) i przepływie fazy ruchomej 0,4 mL/min. Wykorzystano metodę elucji izokratycznej z fazą: 5% MPA. Witaminę C identyfikowano na podstawie czasu retencji i widm UV-Vis. Analizę ilościową przeprowadzono na podstawie krzywej kalibracyjnej wzorca zewnętrznego. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

11. Badanie zawartości wybranych witamin z grupy B.

Ekstrakcję i analizę witamin z grupy B przeprowadzono według metody Mohsin i wsp. (2008).

Próbki o masie około 1 g, po umieszczeniu w 50 mL próbkach, poddano hydrolizie i ekstrakcji 25 mL 0,1 M HCL w temperaturze 100°C przez 20 minut. Następnie próbki schłodzono do temperatury pokojowej oraz odwirowano (20 min, 13200 x g, 4°C) i przefiltrowano (Micro-Spin PES Filter Tubes, Crio Manufacturing Corporation, USA). Uzyskane supernatanty poddano analizie metodą mikro-HPLC-MS/MS. System analityczny składał się z pompy dwukanałowej, pieca kolumnowego, autosamplera, kontrolera systemu oraz spektrometru masowego QTRAP 5500 (Sciex, USA). Rozdział chromatograficzny prowadzono na kolumnie UltraCore SuperPhenylHexyl (100 x 0,5mm, 2.5; ACE, USA) w 45°C i przy przepływie fazy ruchomej 15 µl/min. Zastosowano mieszaniny elucyjne A (20 mM KH_2PO_4, pH 2.7) i B (20 mM KH_2PO_4, pH 2.7 w $MeOH:H_2O$ 50:50 v/v) w następującym schemacie gradientowym: 2-2-98-98-2-2% B w 0-0,2-1,8-4-4,02-5,5 min. Spektrometr masowy QTRAP 5500 pracował w następujących warunkach: jonizacja pozytywna, gaz osłonowy: 25 l/min, napięcie źródła rozpylania jonów: 5400 V, temperatura: 350°C, gaz nebulizatora 1: 35 l/min, gaz turbo: 30 l/ min, DP: 16-90 V, CE: 8-48 eV, EP: 4-15 V, CXP: 5-14. Witaminy identyfikowano na podstawie par MRM i czasów retencji wzorców. Analizę ilościową przeprowadzono wobec wzorców zewnętrznych. Ekstrakcja i analiza były przeprowadzone w trzech powtórzeniach.

12. Badanie zawartości mikro- i makroskładników.

Próbki mineralizowano w probówkach ze szkła borokrzemowego mieszaniną kwasów azotowego i nadchlorowego (3/1, v/v). Mineralizację przeprowadzono w elektrycznym aluminiowym bloku grzejnym z programowaniem temperatury, w ciągu 6 h, podnosząc stopniowo temperaturę od 120 do 200°C. Otrzymany bezbarwny mineralizat przenoszono do kolb pomiarowych o objętości 50 mL i uzupełniano wodą dejonizowaną. Równolegle z próbkami badanymi przygotowano próbki odczynnikowe.

Zawartość magnezu, wapnia, cynku, żelaza, miedzi i manganu oznaczano metodą WHITESIDE i MINER (1984). Oznaczenia zawartości tych pierwiastków wykonano przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej (AAS) Unicam 939 Solar (Anglia).

Fosfor oznaczono według Żarskiej (2000) metodą kolorymetryczną z molibdenianem (VI) amonu oraz z siarczanem (IV) sodu i hydrochinonem. Pomiar absorbancji przy długości fali 610 nm przeprowadzono przy użyciu spektrofotometru VIS 6000 (KRÜSS, Niemcy).

Sód i potas oznaczono według Rutkowskiej (1981) metodą fotometrii płomieniowej stosując fotometr płomieniowy Flapho 4 (Jena, Niemcy).

13. Badanie właściwości przeciwutleniających metodami PCL ACW, PCL ACL, ORAC i FRAP.

Analizy prowadzono według zmodyfikowanej procedury opisanej przez Horszwald i Andlauer (2011) oraz Zielińskiego i in. (2012). Próbki badanego materiału (około 0,1 g) ekstrahowano 80% roztworem wodnym metanolu z wykorzystaniem dezintegratora ultradźwiękowego (VC 750, Sonics & Materials, USA). Po dodaniu do prób 1 ml 80% metanolu prowadzono wytrząsanie przez 30 s (Genie 2, Scientific Industries, USA) oraz działanie ultradźwięków przez 30 s. Następnie próbki odwirowywano z siłą 13200 x *g* przez 10 min w temperaturze 4°C (Centrifuge 5415R, Eppendorf, Niemcy), a uzyskane supernatanty zbierano do 5 mL kolbek miarowych. Procedurę ekstrakcji powtarzano 5 razy do uzyskania 5 mL ekstraktu. Ekstrakcję przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Ekstrakty przechowywano w temperaturze -80°C do czasu analiz właściwości przeciwutleniających.

Właściwości przeciwutleniające analizowano czterema metodami: PCL ACL, PCL ACW, ORAC i FRAP. Metoda ORAC (z ang. Oxygen Radical Absorbance Capacity) umożliwia analizę zdolności przeciwutleniaczy do wymiatania rodników nadtlenkowych. Zasada metody

polega na pomiarze spadku fluorescencji fluoresceiny (FL) na skutek reakcji z rodnikami nadtlenkowymi, które są generowane w wyniku termicznego rozkładu AAPH [2,2'-azobis (2-amidynopropanu)]. Przeciwutleniacze obecne w badanym ekstrakcie powodują zahamowanie rozkładu FL i/lub wydłużenie fazy opóźnienia reakcji utleniania. Metodą FRAP (z ang. ferric ion reducing antioxidant parameter) oznaczano zdolności redukowania jonów Fe(III) poprzez obserwację powstawania intensywnie niebieskiego związku Fe(II), którego absorbancję mierzono przy długości fali UV 593 nm. Pomiary ORAC i FRAP przeprowadzono przy użyciu czytnika mikropłytek InfinitePro 1000 (Tecan, Szwajcaria). Substancją referencyjną był Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, rozpuszczalny w wodzie analog witaminy E). Metodę fotochemiluminescencji (PCL) wykorzystywano do pomiaru zdolności ekstraktów do wychwytywania anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{-\bullet}$, naturalnie występującego w przyrodzie) przez związki przeciwutleniające rozpuszczalne w wodzie (ACW) i rozpuszczalne w tłuszczach (ACL). Pomiar dokonywano przy użyciu aparatu PHOTOCHEM® (Analytic Jena, Niemcy).

IV. Wyniki przeprowadzonych analiz.

Badane próbki zostały oznaczone następującymi symbolami:
KB: kasza bulgur z suszonymi warzywami;
KO: kasza orkiszowa z soczewicą i suszonymi warzywami;
KG: Vege kubek, kasza gryczana z suszonymi warzywami;
KJ: Vege kubek, kasza jaglana z suszonymi warzywami;
GKB: gotowana kasza bulgur z suszonymi warzywami;
GKO: gotowana kasza orkiszowa z soczewicą i suszonymi warzywami;
GKG: zaparzony Vege kubek, kasza gryczana z suszonymi warzywami;
GKJ: zaparzony Vege kubek, kasza jaglana z suszonymi warzywami.

Tabela 1. Profil i zawartość antocyjanów w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

antocyjany	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (µg/g sm)							
cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	82,31 ± 3,44	79,69 ± 6,56	0,00	0,00
cyanidin-3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	27,96 ± 7,71	25,67 ± 6,19	0,00	0,00
cyanidin-3-xylosyl-(feruloylglucosyl)galactoside	28,50 ± 5,21	16,72 ± 3,21	20,16 ± 2,45	6,01 ± 1,71	29,06 ± 1,22	22,37 ± 2,71	0,00	0,00
cyanidin-3-xylosyl-(cumaroylglucosyl)galactoside	219,33 ± 28,41	105,82 ± 11,09	101,11 ± 16,07	25,37 ± 3,34	148,09 ± 5,64	152,20 ± 7,29	0,00	0,00
cyanidin-3-(p-coumaroyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	25,82 ± 6,47	33,94 ± 1,37	0,00	0,00
cyanidin-3-(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	40,75 ± 1,02	45,76 ± 1,81	0,00	0,00
cyanidin-3-(feruloyl)(feruloyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	21,10 ± 1,60	18,30 ± 0,57	0,00	0,00
cyanidin-3-(feruloyl)(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	13,88 ± 2,32	12,55 ± 0,11	0,00	0,00
cyanidin-3-(sinapoyl)(sinapoyl)-diglucoside-5-glucoside	0,00	0,00	0,00	0,00	60,76 ± 1,71	57,89 ± 2,87	0,00	0,00
cyanidin 3-(6"-malonyl-glucoside)	16,10 ± 2,19	9,86 ± 1,18	0,00	0,00	64,87 ± 2,74	26,53 ± 0,66	72,06 ± 2,78	24,24 ± 1,74
suma	**263,93 ± 35,81**	**132,40 ± 15,48**	**121,27 ± 18,52**	**31,38 ± 5,05**	**514,60 ± 33,87**	**474,89 ± 30,14**	**72,06 ± 2,78**	**24,24 ± 1,74**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 2. Profil i zawartość flawonoidów i kwasów fenolowych w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

kwasy fenolowe/flawonoidy	**mieszanki kaszowo-warzywne**							
	KB	**GKB**	**KO**	**GKO**	**KG**	**GKG**	**KJ**	**GKJ**
	zawartość (µg/g sm)							
kwas 4-hydroksybenzoesowy	2,31 ± 0,19	1,84 ± 0,12	8,57 ± 0,37	6,98 ± 0,21	8,72 ± 0,64	9,85 ± 0,74	5,05 ± 0,36	4,45 ± 0,28
kwas salicylowy	0,46 ± 0,03	0,46 ± 0,03	1,93 ± 0,12	1,64 ± 0,04	1,89 ± 0,14	2,19 ± 0,16	1,24 ± 0,09	1,04 ± 0,03
kwas 3-hydroksyfenylooctowy	2,55 ± 0,13	2,17 ± 0,12	1,43 ± 0,03	0,90 ± 0,03	5,35 ± 0,19	4,51 ± 0,24	7,86 ± 0,27	8,24 ± 0,22
kwas protokatechowy	7,54 ± 0,64	4,00 ± 0,28	4,15 ± 0,18	1,65 ± 0,10	13,00 ± 0,58	12,09 ± 0,92	11,27 ± 0,60	12,37 ± 0,79
kwas gentyzynowy	0,77 ± 0,05	0,57 ± 0,04	1,88 ± 0,15	1,17 ± 0,10	2,33 ± 0,12	2,21 ± 0,11	0,98 ± 0,03	0,91 ± 0,06
kwas *orto*-kumarowy	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,46 ± 0,04	0,44 ± 0,02	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,01
kwas *para*-kumarowy	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,15 ± 0,01
kwas wanilinowy	11,80 ± 0,61	14,11 ± 0,88	26,06 ± 2,14	14,48 ± 1,41	27,09 ± 1,96	36,85 ± 3,37	22,65 ± 1,83	24,68 ± 1,78
kwas kawowy	1,72 ± 0,08	1,44 ± 0,07	2,54 ± 0,13	1,46 ± 0,04	3,43 ± 0,28	2,69 ± 0,28	1,08 ± 0,11	1,19 ± 0,04
kwas ferulowy	1,54 ± 0,06	1,24 ± 0,08	0,43 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,87 ± 0,03	0,62 ± 0,03	0,40 ± 0,01	0,45 ± 0,05
kwas syryngowy	6,14 ± 0,48	2,78 ± 0,11	13,07 ± 0,53	7,77 ± 0,60	17,39 ± 0,96	14,26 ± 0,93	14,11 ± 1,11	9,50 ± 0,41
kwas synapowy	0,89 ± 0,07	1,23 ± 0,12	9,65 ± 0,50	6,89 ± 0,08	16,50 ± 1,13	14,29 ± 1,04	0,39 ± 0,02	0,47 ± 0,03
kwas chlorogenowy	1,28 ± 0,05	0,45 ± 0,01	0,90 ± 0,09	0,21 ± 0,01	1,14 ± 0,02	1,07 ± 0,09	0,20 ± 0,01	0,16 ± 0,01
kwas *trans*-cynamonowy	740,82 ± 66,78	427,78 ± 33,05	253,09 ± 29,52	164,32 ± 24,16	271,90 ± 11,16	224,74 ± 9,47	220,30 ± 11,92	204,27 ± 13,39
suma kwasów fenolowych	**778,02 ± 69,19**	**458,23 ± 34,93**	**323,94 ± 33,79**	**208,17 ± 26,82**	**370,27 ± 17,26**	**325,97 ± 17,41**	**285,92 ± 16,38**	**268,07 ± 17,11**
	zawartość (µg/g sm)							
apigenina	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00
katechina	3,61 ± 0,12	3,00 ± 0,11	5,44 ± 0,37	2,85 ± 0,16	13,57 ± 0,76	8,02 ± 0,31	11,35 ± 0,91	8,84 ± 1,83
mirycetyna	62,91 ± 4,68	53,56 ± 3,35	65,77 ± 3,46	37,76 ± 1,89	38,52 ± 3,28	36,00 ± 1,92	22,56 ± 1,27	28,01 ± 1,01
rutyna	0,01 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00	0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
sylibina A	1,36 ± 0,05	0,46 ± 0,04	2,36 ± 0,12	0,47 ± 0,04	2,28 ± 0,11	2,00 ± 0,09	1,00 ± 0,02	1,09 ± 0,02
sylibina B	0,80 ± 0,04	0,81 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,49 ± 0,02	7,02 ± 0,62	7,04 ± 0,29	7,53 ± 0,40	8,48 ± 0,59
suma flawonoidów	**68,71 ± 4,89**	**57,86 ± 3,53**	**74,03 ± 3,96**	**41,59 ± 2,11**	**61,44 ± 4,77**	**53,11 ± 2,61**	**42,47 ± 2,60**	**46,46 ± 3,45**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 3. Zawartość związków kwercetyny w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

związki kwercetyny	**mieszanki kaszowo-warzywne**							
	KB	**GKB**	**KO**	**GKO**	**KG**	**GKG**	**KJ**	**GKJ**
	zawartość (µg/g sm)							
aglikon kwercetyny	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00
4'-glukozyd kwercetyny	30,00 ± 2,72	14,80 ± 0,37	0,57 ± 0,02	0,33 ± 0,02	19,49 ± 1,18	16,79 ± 1,38	39,98 ± 2,26	16,40 ± 1,13
suma	**30,01 ± 2,72**	**14,81 ± 0,37**	**0,57 ± 0,02**	**0,33 ± 0,02**	**19,50 ± 1,18**	**16,79 ± 1,38**	**39,99 ± 2,27**	**16,42 ± 1,13**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 4. Profil i zawartość karotenoidów w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

karotenoidy	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (µg g/g sm)							
luteina	3,37 ± 0,16	3,31 ± 0,34	4,27 ± 0,15	4,51 ± 0,93	10,36 ± 0,79	12,87 ± 0,98	8,26 ± 0,90	6,83 ± 0,62
ε-karoten	0,00	0,00	2,06 ± 0,31	2,30 ± 0,53	0,00	0,00	0,00	0,00
β-karoten	1,56 ± 0,14	1,77 ± 0,22	16,58 ± 0,56	15,43 ± 0,78	10,14 ± 0,68	10,79 ± 1,26	4,98 ± 0,41	3,24 ± 0,29
γkaroten	0,00	0,00	16,33 ± 0,83	17,87 ± 0,52	0,00	0,00	0,00	0,00
likopen	0,00	0,00	353,06 ± 3,29	283,51 ± 4,25	271,96 ± 4,00	196,12 ± 4,95	298,10 ± 4,69	156,63 ± 2,87
suma	**4,93 ± 0,30**	**5,08 ± 0,57**	**392,30 ± 5,14**	**323,62 ± 7,00**	**292,46 ± 5,46**	**219,78 ± 7,19**	**311,34 ± 5,99**	**166,71 ± 3,78**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 5. Zawartość witaminy E w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

składowe witaminy E	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (µg g/g sm)							
α-tokoferol	0,106 ± 0,001	0,051 ± 0,002	1,369 ± 0,006	1,096 ± 0,011	0,873 ± 0,022	0,718 ± 0,021	0,444 ± 0,010	0,057 ± 0,001
β+γ-tokoferol	0,001 ± 0,000	0,000	0,000	0,000	0,059 ± 0,002	0,019 ± 0,000	0,003 ± 0,001	0,001 ± 0,000
δ-tokoferol	0,023 ± 0,001	0,019 ± 0,001	0,041 ± 0,000	0,036 ± 0,002	0,047 ± 0,001	0,036 ± 0,001	0,024 ± 0,001	0,007 ± 0,000
α-tokotrienol	0,118 ± 0,002	0,005 ± 0,019	0,271 ± 0,017	0,003 ± 0,000	2,246 ± 0,058	0,113 ± 0,004	0,154 ± 0,002	0,051 ± 0,010
β+γ-tokotrienol	0,021 ± 0,001	0,002 ± 0,000	0,081 ± 0,003	0,061 ± 0,003	0,036 ± 0,002	0,005 ± 0,000	0,084 ± 0,002	0,010 ± 0,000
δ-tokotrienol	1,018 ± 0,031	0,575 ± 0,016	1,630 ± 0,050	0,963 ± 0,017	0,697 ± 0,010	0,280 ± 0,015	0,305 ± 0,017	0,112 ± 0,006
suma	**1,287 ± 0,035**	**0,652 ± 0,038**	**3,392 ± 0,076**	**2,159 ± 0,033**	**3,958 ± 0,095**	**1,171 ± 0,041**	**1,014 ± 0,033**	**0,238 ± 0,017**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 6. Profil i zawartość kwasów tłuszczowych w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

Tabela 1. Profil i zawartość antocyjanów w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

kwasy tłuszczowe	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (mg/g sm)							
lignocerynowy	17,30 ± 0,50	8,13 ± 0,50	18,19 ± 0,76	9,39 ± 0,34	13,37 ± 1,12	11,78 ± 0,81	46,70 ± 1,21	35,54 ± 0,70
mirystynowy	2,36 ± 0,22	1,68 ± 0,06	3,74 ± 0,16	1,98 ± 0,06	4,88 ± 0,13	2,00 ± 0,06	2,63 ± 0,44	2,03 ± 0,10
palmitynowy	26,36 ± 1,55	13,49 ± 0,31	49,93 ± 0,50	14,11 ± 0,37	51,11 ± 0,30	11,32 ± 0,28	40,98 ± 0,38	37,96 ± 1,44
stearynowy	8,23 ± 0,40	4,99 ± 0,36	16,82 ± 0,71	9,4 ± 0,41	32,20 ± 0,48	10,32 ± 0,38	29,77 ± 0,64	14,12 ± 0,60
linolowy	59,91 ± 2,15	21,53 ± 0,86	111,14 ± 1,80	36,54 ± 1,07	88,83 ± 0,42	23,59 ± 0,82	129,78 ± 2,63	35,04 ± 1,19
oleopalmitynowy	1,70 ± 0,05	0,99 ± 0,02	4,13 ± 0,06	1,82 ± 0,07	20,53 ± 0,22	1,70 ± 0,77	22,95 ± 0,56	3,99 ± 1,10
linolenowy	86,73 ± 3,00	36,21 ± 3,03	102,67 ± 2,15	86,12 ± 1,48	73,25 ± 3,13	51,79 ± 1,90	52,81 ± 2,41	43,24 ± 0,61
oleinowy	58,84 ± 2,05	11,67 ± 0,27	109,10 ± 1,78	16,57 ± 0,26	96,60 ± 0,33	16,43 ± 0,15	72,65 ± 0,71	50,96 ± 0,62
behenowy	0,62 ±0,01	0,26 ± 0,01	2,69 ± 0,14	0,63 ± 0,02	15,41 ± 0,50	0,46 ± 0,01	4,60 ± 0,12	1,56 ± 0,27
arachidowy	3,23 ± 0,18	1,14 ± 0,08	10,39 ± 0,28	1,68 ± 0,07	47,18 ± 0,56	1,50 ± 0,11	25,22 ± 0,28	18,45 ± 0,33
suma	**265,30** ± 10,12	**100,09** ± 5,52	**428,80** ± 8,35	**178,28** ± 4,15	**443,36** ± 7,19	**130,89** ± 5,29	**428,09** ± 9,39	**242,89** ± 6,97

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 7. Profil i zawartość betalain w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

betalainy	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (mg/g sm)							
betanidyna/ izobetanidyna	2,65 ± 0,06	1,56 ± 0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	4,09 ± 0,01	0,14 ± 0,00
betanina/ izobetanina	9,60 ± 0,25	7,50 ± 0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	3,06 ± 0,02	0,08 ± 0,00
suma	**12,25 ± 0,31**	**9,06 ± 0,22**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**0,00**	**7,15 ± 0,03**	**0,22 ± 0,01**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 8. Profil i zwartość związków lotnych w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

związki lotne	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (µg/g d4-pirazyny)							
3-metylbutanal	11.09±1.33	12.62±0.98		2.80±0.14				
2-pentanon			11.03±0.28		23.45±2.33	23.80±0.46		70.80±7.26
4-metyl-2-pentanon			11.00±0.53					
α-pinen	11.72±1.68	9.95±0.96	6.00±0.36	2.43±0.37	142.35±33.85		56.08±3.20	19.84±1.19
heksanal	154.99±5.57	101.14±9.12	16.02±1.96	7.60±0.46	12.37±0.38	30.89±3.79	46.37±0.66	
2-propen-1-ol	53.57±1.37		23.43±3.73	4.68±0.60	8.21±0.18			
3-karen	20.11±0.68	7.93±0.95	32.81±3.97	7.06±0.57	10.04±0.49	30.80±2.48	48.13±2.60	8.80±0.94
α-phellandren					459.42±24.49			
α-terpinen					78.56±3.00			
1-okten-3-on						11.67±0.76		
(Z)-2-heptanal						65.62±15.23		
β-pinen	9.78±0.27	11.16±0.51						
D-limonen	475.83±46.75	15.03±1.90	112.74±7.01	25.14±2.65	848.59±183.71	51.97±0.85	402.45±45.87	168.88±14.71
2,6-nonadien-1-ol			74.38±6.61		306.61±31.91		80.30±10.47	166.21±18.21
(E)-2-oktenal						9.70±1.22		
2-pentylfuran		15.24±1.12		5.87±0.48				
ester etylowy kwasu heksanowego					7.13±0.18			
terpinen					54.68±11.63			
o-cymen	28.61±1.92	13.15±0.27	22.56±0.65	8.90±0.23	4042.52±199.24	94.29±30.87	1857.83±304.78	1326.50±155.78
1-heksanal		5.47±0.36		6.39±0.43		65.46±2.33		16,13±1.56
(E)-1-okten-1-ol						8.95±2.76		
metylo-2-propenylodisulfid				2.46±0.20				
3-hydroksy-2-butanon	8.28±1.92		37.43±5.46	1.69±0.23	13.39±0.19	7.80±1.91		
1-okten-3-ol						57.13±10.20		59.24±4.12
2,5-dimetylopirazyna					13.48±0.91		67.84±3.42	
methyl ester 2-hydroxy propanoic acid	11.13±1.17							
6-metylo-5-hepten-2-on			63.84±0.43	14.25±1.66	103.24±7.95	35.39±7.43	50.18±6.20	42.41±1.85
2,3-dimetylopirydyna					8.21±1.08			
1-heksanol	18.58±0.43		10.95±1.30		16.53±1.37		27.62±2.75	
(Z)-3-heksen-1-ol			5.69±0.12		20.91±0.80			
p-α-dimetylostyren			4.91±0.33	1.36±0.11	59.58±10.74	16.15±4.05	24.90±3.20	25.44±3.48
kwas octowy	143.75±2.20	15.81±0.16	75.70±3.48	4.95±0.65	226.44±2.16		177.16±6.56	9.25±0.08
furfural			6.98±1.04	3.48±0.46				
diallyl disulfidu	5.46±0.65	11.52±0.84	15.19±0.36	8.89±0.92	35.30±1.35	8.07±0.15		
benzaldehyd	7.20±0.30	4.06±0.54	6.37±1.17	4.61±0.43		10.89±1.79	20.98±0.17	25.24±3.32
2,3-butanediol (R,S)	25.15±1.89		62.06±13.83		30.52±0.65	8.34±2.04	51.31±1.91	10.38±0.66
2,3-butanediol (S,S)	19.96±2.49		47.70±11.29		103.98±6.81	7.16±0.39	68.35±7.35	6.21±0.39

karyofilen	10.99±1.15	6.48±0.63	7.34±0.06	1.45±0.18	61.21±1.87	102.52±3.99	251.42±24.20	
(E)-2-okten-1-ol		1.80±0.07						
kwas butanowy					38.84±0.43	8.03±1.45	31.94±2.25	
butyrolakton	18.35±1.10	6.38±0.03	7.72±0.97	5.02±0.05	62.59±14.42		19.23±2.80	
metoksy-fenylo-oksym		4.43±0.29		3.63±0.56				
2-hydroksybenzaldehyd					31.98±0.88		20.23±1.37	
kwas 3-metylobutanowy	12.63±1.82							
kwas 2-metyloheksanowy			6.36±0.69					
karwon	40.82±4.67	3.76±0.59	9.39±1.05	1.32±0.16	282.98±17.87	10.54±3.73	9.19±1.96	34.02±3.04
kwas heksanowy	36.95±3.28	6.82±0.08	6.57±0.59	2.80±0.02	27.18±1.43	11.71± 2.23	17.8±2.46	8.84±0.79
2-acetylopyrol			4.79±0.70	1.21±0.06				
kwas oktanowy	14.72±1.44	10.67±2.45	58.44±4.41					

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 9. Zawartości witaminy D w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	**GKB**	**KO**	**GKO**	**KG**	**GKG**	**KJ**	**GKJ**
	zawartość (j. m.)							
witamina D	995 ± 2	398 ± 4	996 ± 4	408 ± 5	996 ± 3	549 ± 5	998 ± 3	587 ± 5

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 10. Zawartość witaminy C w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	**GKB**	**KO**	**GKO**	**KG**	**GKG**	**KJ**	**GKJ**
	zawartość (µg/g sm)							
witamina C	0,26 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,29 ± 0,03	0,10 ± 0,01

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 11. Zawartość wybranych witamin z grupy B w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

witaminy	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	**GKB**	**KO**	**GKO**	**KG**	**GKG**	**KJ**	**GKJ**
	zawartość (ng/g)							
B1	0,44 ± 0,03	0,51 ± 0,05	0,69 ± 0,04	0,85 ± 0,04	0,55 ± 0,05	0,76 ± 0,03	0,54 ± 0,03	0,60 ± 0,02
B2	0,23 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,03	1,04 ± 0,05	1,40 ± 0,10	1,48 ± 0,02	2,46 ± 0,08
B3	0,72 ± 0,04	0,93 ± 0,04	0,56 ± 0,05	0,46 ± 0,04	2,34 ± 0,25	3,85 ± 0,18	0,53 ± 0,04	0,39 ± 0,02
B4	0,15 ± 0,00	0,15 ± 0,01	0,34 ± 0,03	0,22 ± 0,02	0,44 ± 0,05	0,48 ± 0,03	0,41 ± 0,02	0,56 ± 0,01
B6	0,33 ± 0,04	0,16 ± 0,02	0,42 ± 0,01	0,24 ± 0,03	0,45 ± 0,03	0,42 ± 0,05	0,25 ± 0,03	0,29 ± 0,02
B8	0,26 ± 0,03	0,68 ± 0,04	0,64 ± 0,05	0,96 ± 0,02	0,92 ± 0,03	1,16 ± 0,09	0,57 ± 0,04	0,78 ± 0,03
suma	**2,13 ± 0,16**	**2,68 ± 0,17**	**2,96 ± 0,18**	**3,02 ± 0,17**	**5,75 ± 0,45**	**8,08 ± 0,48**	**3,78 ± 0,18**	**5,08 ± 0,19**

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 12. Zawartości wybranych mikro- i makroskładników w badanych mieszankach kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ).

mikro- i makroskładniki	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	zawartość (µg/g)							
Cu	4,25 ± 0,04	4,62 ± 0,15	5,39 ± 0,01	6,55 ± 0,04	5,84 ± 0,04	6,11 ± 0,08	5,71 ± 0,05	5,83 ± 0,03
Mn	13,12 ± 0,05	16,40 ± 0,05	9,53 ± 0,06	10,27 ± 0,09	9,42 ± 0,05	10,47 ± 0,07	9,38 ± 0,03	9,74 ± 0,07
Fe	20,22 ± 0,18	23,65 ± 0,09	32,53 ± 0,38	36,33 ± 0,11	22,24 ± 0,37	23,68 ± 0,16	50,51 ± 0,42	51,38 ± 0,39
Zn	18,68 ± 0,35	53,45 ± 0,38	24,59 ± 0,13	33,52 ± 0,40	25,80 ± 0,21	35,46 ± 0,19	31,68 ± 0,20	37,53 ± 0,38
Mg	706,75 ± 2,42	661,07 ± 9,13	974,53 ± 13,49	1088,52 ± 7,47	1745,09 ± 30,60	1870,75 ± 37,81	1363,66 ± 33,92	1427,25 ± 19,97
Ca	923,76 ± 16,19	1447,24 ± 13,78	425,06 ± 12,16	954,35 ± 18,07	875,79 ± 2,96	1070,40 ± 21,13	1666,68 ± 43,54	1845,85 ± 34,36
Na	5858,61 ± 30,03	2145,85 ± 66,36	36,71 ± 0,32	90,12 ± 0,76	4192,52 ± 5,38	4051,63 ± 39,66	3572,82 ± 70,79	3845,38 ± 61,81
K	7145,53 ± 42,58	3204,63 ± 75,44	10068,91 ± 38,65	6664,12 ± 45,43	10832,95 ±70,67	11410 ± 58,99	8239,90 ± 79,98	8427,14 ± 53,73
P	2181,55 ± 12,29	2152,02 ± 45,03	3647,74 ± 10,32	3886,79 ± 15,28	4238,67 ±13,88	4493,57 ± 72,09	3259,38 ±16,73	3460,76 ± 18,87

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

Tabela 13. Właściwości przeciwutleniające mieszanek kaszowo-warzywnych (KB, GKB, KO, GKO, KG, GKG, KJ, GKJ) mierzone metodą PCL ACW, PCL ACL, ORAC i FRAP.

testy właściwości przeciwutleniających	mieszanki kaszowo-warzywne							
	KB	GKB	KO	GKO	KG	GKG	KJ	GKJ
	(µmol Troloksu/g sm)							
FRAP	7,81 ± 0,32	4,88 ± 0.27	8,12 ± 0,38	5,22 ± 0,22	15,16 ± 0,52	14,98 ± 0,07	11,14 ± 0,03	11,43 ± 0,06
ORAC	124,45 ± 7,49	81,96 ± 2,95	115,62 ± 7,46	88,05 ± 2,53	391,61 ± 5,46	419,59 ± 7,42	364,82 ± 21,39	365,01 ± 14,57
PCL ACW	5,10 ± 0,09	3,42 ± 0,14	3,90 ± 0,17	2,17 ± 0,10	10,62 ± 0,49	14,81 ± 0,64	3,32 ± 0,07	3,22 ± 0,05
PCL ACL	1,53 ± 0,02	1,24 ± 0.04	1,65 ± 0,01	1,26 ± 0,06	4,45 ± 0,10	4.02 ± 0,09	3,02 ± 0,08	3,48 ± 0,09

Dane wyrażono jako średnia ± odchylenie standardowe (n = 3).

V. Podsumowanie.

Przeanalizowane mieszanki kaszowo-warzywne charakteryzowały się różnorodną zwartością fitozwiązków, która determinowała odmienne właściwości przeciwutleniające. Vege kubek - kasza gryczana z suszonymi warzywami charakteryzował się najwyższą zawartością sumy antocyjanów, sumy składowych witaminy E, sumy kwasów tłuszczowych, witaminy C i witamin z grupy B. Kasza bulgur z suszonymi warzywami była najzasobniejsza w sumę kwasów fenolowych i flawonoidów oraz sumę betalain. Kasza orkiszowa z soczewicą i suszonymi warzywami zawierała najwięcej karetonoidów, natomiast Vege kubek - kasza jaglana z suszonymi warzywami związków kwercetyny. Najwyższymi wartościami właściwości przeciwutleniających oznaczanych wszystkimi czterema metodami charakteryzował się Vege kubek - kasza gryczana z suszonymi warzywami co prawdopodobnie wynika z jego zasobności w fitozwiązki. Zastosowane procesy spowodowały spadek zawartości badanych składników z różną intensywnością.

VI. Literatura

Esteve MJ., Farre R., Frigola A., Garcia-Cantabella JM. (1997). Determination of ascorbic and dehydroascorbic acids in blood plasma and serum by liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 688, 345-349.

Fotschki B., Opyd P., Juśkiewicz J., Wiczkowski W., Jurgoński A. (2020). Comparative effects of dietary hemp and poppy seed oil on lipid metabolism and the antioxidant status in lean and obese Zucker rats. *Molecules*, 25, 2921, 1-13.

Jeż M., Błaszczak W., Zielińska D., Wiczkowski W., Białobrzewski I. (2020). Carotenoids and lipophilic antioxidant capacities of tomato purees as affected by high hydrostatic pressure processing. *International Journal of Food Science and Technology*, 55, 65-73.

Mohsin S., Zumwalt M., Singh I. (2008). Quantitative analysis of water-soluble B-vitamins in cereal using rapid resolution LC/MS/MS application. Food Analysis. Agilent Technologies Inc., USA.

Ogawa S., Ooki S., Morohashi M., Yamagata K., Higashi T. (2013). A novel cookson-type reagent for enhancing sensitivity and specificity in assessment of infant vitamin D status using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications Mass Spectrometry*, 27, 2453–2460.

Płatosz N., Sawicki T., Wiczkowski W. (2020). Profile of phenolic acids and flavonoids of red beet and its fermentation products. Does long-term consumption of fermented beetroot juice affect phenolics profile in human blood plasma and urine? *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 70, 55-65.

Rutkowska U. (red.) (1981). Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności. PZWL. Warszawa.

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

Starowicz M., Koutsidis G., Zieliński H. (2019). Determination of antioxidant capacity, phenolics and volatile Maillard reaction products in rye-buckwheat biscuits supplemented with 3β-D-rutinoside. *Molecules,* 24, 982.

Wiczkowski W., Szawara-Nowak D., Topolska J., Olejarz K., Zieliński H., Piskuła MK. (2014). Metabolites of dietary quercetin: profile, isolation, identification, and antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 11, 121-129.

Wiczkowski W., Szawara-Nowak D., Topolska J. (2013). Red cabbage anthocyanins: profile, isolation, identification, and antioxidant activity. *Food Research International*, 51, 303-309.

Whiteside P., Miner B. (1984). Atomic Absorption – Data Book. Pye Unicam Ltd., Cambridge, England.

Zieliński H., Michalska A., Szawara-Nowak D., Wiczkowski W., Piskuła MK. (2007) Tocotrienols in three rye varietes: from the grain to the bread. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57, 441–446.

Żegarska Z. (red.) (2000). Ćwiczenia z analizy żywności. Wydawnictwo UWM Olsztyn.

Olsztyn, 14.07.2021

Wiśniewski