

ELŻBIETA KLEWICKA

BETACYJANINY – BIODOSTĘPNOŚĆ I BIOLOGICZNA AKTYWNOŚĆ

Streszczenie

Omówiono budowę i właściwości czerwonych barwników betalainowych – betacyjanin, występujących w roślinach należących do niektórych rodzin z rzędu goździkowców (*Caryophyllales*). Rośliny zawierające betacyjaniny są spożywane przez człowieka w stanie surowym lub w postaci konserw i koncentratów warzywnych. Ponadto ekstrakty barwników betalainowych dodawane są do żywności jako naturalne preparaty koloryzujące. W Europie najpopularniejszym źródłem betacyjanin jest burak ćwikłowy (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*). W pracy szczególną uwagę zwrócono na biologiczną aktywność tych związków i mechanizmy ich oddziaływania na organizm człowieka. Zaproponowano możliwy model wchłaniania i cyrkulacji betacyjanin w organizmie człowieka. Przedstawiono również dane na temat przeciwnowotworowego działania tych związków i ich roli w prewencji chorób degeneracyjnych i nowotworowych.

Słowa kluczowe: betacyjaniny, betanina, aktywność przeciwutleniająca, biodostępność

Wprowadzenie

Żywność bogata w składniki bioaktywne ma pomóc w utrzymaniu zdrowia i zapobiegać dietozależnym chorobom o charakterze degeneracyjnym, a w szczególności nowotworom. Spożywanie żywności bogatej w związki bioaktywne, takie jak: polifenole, organiczne połączenia siarki, terpeny, kurkuminę, kumaryny, karotenoidy, betalainy stanowić może naturalną chemioprewencję. Ten rodzaj chemioprewencji ma na celu zapobieganie, zahamowanie lub/i odwrócenie procesu nowotworzenia, szczególnie we wczesnych etapach. Czas od zainicjowania zmian powodujących powstawanie nowotworu do rozwinięcia się klinicznie rozpoznawalnych objawowo zmian chorobowych jest relatywnie długi. Pozwala to na wczesną interwencję żywieniową. Jedną z grup związków o aktywności przeciwnowotworowej są czerwono-fioletowe barwniki, betacyjaniny, należące do grupy betalain. Bogate w betacyjaniny są buraki ćwikłowe (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*), kaktusy należące do rodzaju *Hylocereus* i *Opuntia*

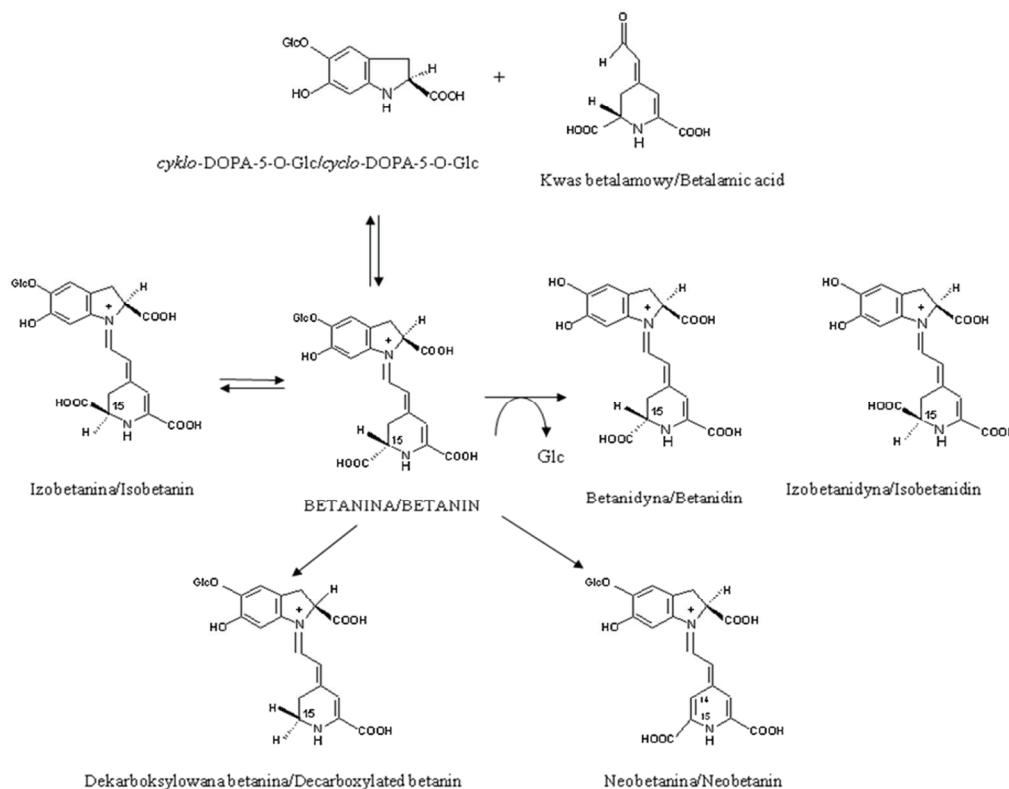
Dr inż. E. Klewicka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, Politechnika Łódzka, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

oraz liczne gatunki kwiatów należące do rodziny *Amaranthaceae* [6, 18, 30, 35, 46]. W Europie powszechnie dostępnym źródłem betacyjanin jest burak ćwikłowy. Burak ćwikłowy oprócz spożycia w stanie świeżym jest cennym surowcem wykorzystywanym w przemyśle żywnościowym do produkcji suszu, mrożonek, soków pitnych i zagęszczonych, jak również wykorzystywany jest do produkcji naturalnych barwników (betacyjanin) stosownych jako dodatki do żywności.

Charakterystyka i występowanie betacyjanin

Betacyjaniny są barwnikami azotowymi zbudowanymi z kwasu betalامowego i *cyklo*-3,4-dihydroksyfenyloalaniny (*cyklo*-DOPA) [14, 35]. Układem chromoforowym występującym w betacyjaninach jest żółty kwas betalامowy. Betacyjaniny swoją fioletową barwę zawdzięczają znacznemu wydłużeniu układu sprzężonych podwójnych wiązań przez połączenie kwasu betalامowego z cząsteczką glukozydu *cyklo*-DOPA-5-O-Glc (Glc-glukoza), w której znajduje się pierścień aromatyczny. W wyniku takiego połączenia powstaje betanina o barwie fioletowo-czerwonej (rys. 1).

Wszystkie poznane betacyjaniny są heteroglikozydami betaniny lub izobetaniny (betanina, izobetanidyna, neobetanina, dekarboksylowana betanina) [9]. Betacyjaniny należą do barwników rozpuszczalnych w wodzie. Ich stabilność w roztworach jest ograniczona przez takie czynniki środowiskowe, jak: stężenie barwników w roztworze, aktywność wody, wartość pH, obecność związków o aktywności przeciwutleniającej, obecność kationów metali, temperatura oraz czynniki strukturalne: stopień glikozylacji, stopień acylacji. Betacyjaniny są stabilne podczas krótkotrwałego ogrzewania (do 3 min) w temp. 80 °C [17]. Kidoń i Czapski [22] stwierdzili, że podczas blanszowania buraków ćwikłowych w temp. 90 °C po 3 min następuje 25 % zmniejszenie zawartości czerwonych barwników, jednak wydłużenie tego czasu do 10 min nie wpłynęło znacząco na dalsze straty barwników. Zmniejszenie stężenia betacyjanin podczas obróbki termicznej jest wynikiem przede wszystkim rozpadu betaniny na kwas betalامowy i *cyklo*-DOPA. Do produktów termicznej degradacji betaniny zalicza się również izobetaninę i dekarboksylowaną betaninę. Najwyższą stabilność związki te wykazują, gdy wartość pH środowiska mieści się w przedziale 4,0 - 6,0, w temperaturze pokojowej [36, 43]. Większość reakcji termicznego rozpadu betaniny są to reakcje odwracalne, zależne od stężenia początkowego betaniny, temperatury i wartości pH środowiska. W kwaśnym środowisku następuje regeneracja betaniny z *cyklo*-DOPA i kwasu betalامowego, jak również izobetanina przekształca się do formy wyjściowej – betaniny. W środowisku o pH 3,0 wodne roztwory zmieniają barwę w kierunku fioletowego, co jest wynikiem dysocjacji grup karboksylowych. Ponadto, przy niskim pH wulgaksantyny, które są obecne w sokach buraczanych są mało trwałe. Rozpad wulgaksantyn



Rys. 1. Betanina i produkty jej przemian.

Fig. 1. Betanin and products of its transformation

Opracowano na podstawie: / Prepared on the basis of [9, 46, 49].

może indukować zmianę barwy soku w kierunku barwy fioletowej. Betacyjaniny ulegają również przemianom enzymatycznym. Pod wpływem działania β -glukozydazy na betaninę i izobetaninę następuje odszczepienie cząsteczki glukozy, w wyniku czego powstaje betanidyna i izobetanidyna (rys. 1). Związki te są zaliczane do grupy aglikonów, które charakteryzują się wysoką biologiczną reaktywnością, podlegając acylacji i alkilacji [47, 49]. Termiczne procesy utrwalania żywności bogatej w betacyjaniny nie są zalecane ze względu na duże straty barwników. W technologiach przetwórstwa buraków ćwikłowych można stosować fermentację mlekową zarówno krajanki korzenia buraków, jak i soku. Podczas fermentacji betacyjaniny ulegają co prawda także przemianom wynikającym z aktywności enzymatycznej bakterii oraz obniżenia wartości pH do około 4,0 - 4,5. Jednak zastosowanie odpowiedniej kultury starterowej i odmiany buraka do fermentacji pozwala zachować betacyjaniny w 75 %, w stosunku do pierwotnego stężenia [11, 40]. Po fermentacji mlekowej soku buraczanego, oprócz stężenia betacyjanin, zmienia się również ich profil. W sokach świeżych dominującymi

barwnikami czerwonymi są betanina i izobetanina, a w niskich stężeniach neobetanina. Natomiast po fermentacji w sokach pojawiają się dodatkowo aglikony: betanidyna i izobetanidyna. Wzajemne proporcje tych związków po fermentacji mlekowej są uzależnione od odmiany buraków, jak i od zastosowanej kultury starterowej [11].

Aktywność przeciwutleniająca betacyjanin

Ważną cechą betacyjanin jest ich zdolność do wygaszania wolnych rodników (ROS) obecnych w środowisku. W betaninie (dominującym barwniku w świeżym surowcu buraczanym) obecna jest tylko jedna grupa fenolowa, której cząsteczka betaniny zawdzięcza właściwości przeciwutleniające. Takie właściwości mogą mieć również produkty jej rozpadu czyli neobetanina czy *cyklo*-DOPA. Kwas betalainowy i glukozyd *cyklo*-DOPA, powstające podczas rozpadu betaniny w środowisku zasadowym, nie wykazują właściwości przeciwutleniających. Natomiast w środowisku o kwaśnym pH związki te mogą wykazywać aktywność przeciwutleniającą [5, 9].

Czapski i wsp. [10] badali wartość antyoksydacyjną soków pozyskanych z 11 odmian buraka ćwikłowego (Ceryl, Chrobry, Czerwona Kula, Nochowski, Noe 21, Noe 694, Noe 904, Noe Pol, Okrągły Ciemnoczerwony, Opolski, Wodan). Wartość antyoksydacyjna tych soków kształtowała się na poziomie od 10,2 do 20,6 $\mu\text{Mol Troloxu/ml}$. Autorzy ci wykazali korelację pomiędzy aktywnością przeciwutleniającą a zawartością betacyjanin. Po kontrolowanej fermentacji mlekowej soku z buraka ćwikłowego odmiany Chrobry o aktywności przeciwutleniającej 13,04 $\mu\text{Mol Troloxu/ml}$ soku, aktywność przeciwutleniająca soku obniża się w zależności od zastosowanej szczepionki lub szczepu i wynosi od 7,70 do 10,62 $\mu\text{Mol Troloxu/ml}$ soku [25], co związane jest z częściową degradacją betacyjanin. Aktywność przeciwutleniająca świeżego buraka ćwikłowego (korzeń, sok) zależna jest od stężenia czerwonych barwników – betacyjanin. Ogrzewanie suszu buraczanego poza środowiskiem wodnym powodowało degradację barwników betalainowych, szczególnie betacyjanin, ale nie następowała utrata aktywności przeciwutleniającej, a wręcz jej przyrost [22]. Pod wpływem wysokiej temperatury barwniki czerwone mogą przechodzić w żółte lub też mogą powstawać inne produkty termicznej degradacji, np. związki Maillarda [22]. Ponadto, ogrzewanie ułatwia ekstrakcję z tkanki buraka innych związków, poza barwnikami, które również wykazują aktywność przeciwutleniającą, np. kwas ferulowy [37]. Kwas ferulowy zaliczany jest do grupy polifenoli. W buraku ćwikłowym średnio odnotowuje się $14,40 \pm 6,75 \text{ mg/100 g}$. Stężenie kwasu ferulowego jest zróżnicowane w zależności od odmiany buraka [21, 31].

Betanina i betanidyna reagują z wolnymi rodnikami powstającymi z rozpadu 2,2'-azobis(2-amidynopropanu), które najczęściej powodują niekontrolowane procesy utleniania lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) [1, 5, 51-53]. Działanie betaniny ogranicza się tylko do fazy lipidowej, natomiast betanidyna charakteryzuje się aktywnością prze-

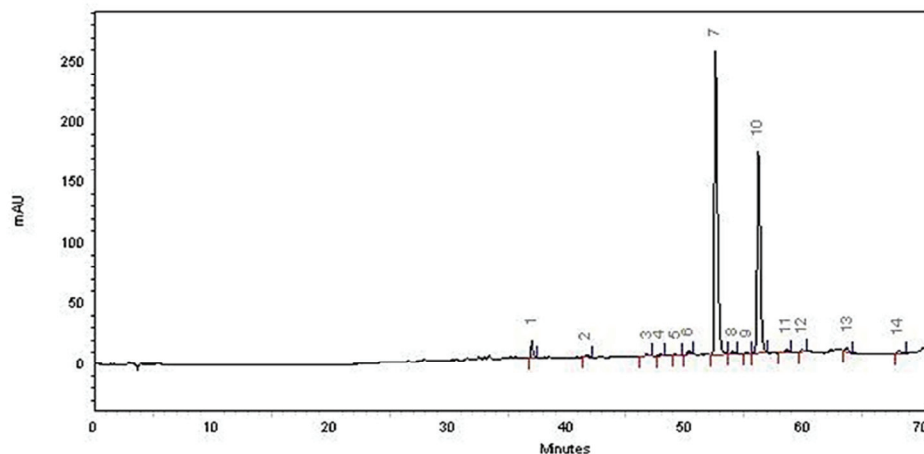
ciwutleniającą zarówno we frakcjach hydrofilnych, jak i lipofilnych [1, 51]. Kinetyka zdolności wygaszania wolnych rodników wskazuje na wyższą efektywność betanidyny, porównywalną z witaminą E. Mechanizm reakcji wygaszania azorodników przez betaninę polega na reakcji podstawienia glukozy grupą monofenolową, a w betanidynie nie możliwe jest podstawienie w pozycji *orto*-difenolu [52].

Biodostępność betacyjanin

Badania ostatnich lat wykazały, że przenoszenie wyników uzyskanych w modelach *in vitro* do modelu *in vivo* wymaga dużej ostrożności z uwagi na nie do końca poznany mechanizm przyswajania i metabolizowania związków o aktywności przeciwutleniającej w organizmie człowieka i zwierząt.

Biodostępność betacyjanin uzależniona jest od czynników strukturalnych tych związków, glikozylacji oraz obecności składników towarzyszących w diecie. Decydują one zarówno o miejscu ich wchłaniania w przewodzie pokarmowym, jak i o sposobie czy mechanizmie w jaki przenikają barierę jelitową. Oksydacyjnie najaktywniejsze są betanina i betanidyna. Związki te, spożywane przez człowieka i zwierzęta, już w bardzo małych stężeniach (w mikromolach) ograniczają procesy utleniania lipidowej warstwy membran komórkowych, jak również hamują proces rozkładu hemu, występującego w hemoglobinie, mioglobinie i cytochromach [19].

Wiedza na temat absorpcji betacyjanin w organizmie człowieka jest niewielka. Wiadomo, że betalainy pochodzące z owoców kaktusów w przewodzie pokarmowym człowieka degradowane są od 24 do 29 % w żołądku, w jelicie cienkim następuje kolejny ubytek stężenia o 20 - 26 % i w jelicie grubym dochodzi do dalszej degradacji betacyjanin o kolejne 20 - 29 % [41]. Betanina w formie niezmienionej wydalana jest wraz z moczem człowieka w ilości 3,7 % dawki pierwotnej (w przypadku betacyjanin z owoców kaktusa) [51] i od 0,28 % do 0,9 % w przypadku spożycia betacyjanin pochodzących z soku buraczanego [15, 19]. W surowicy krwi ochotników po spożyciu owoców kaktusa stwierdzono od 3,5 do 4,0 % spożytej dawki betacyjanin, w przeliczeniu na betaninę [51]. W osoczu krwi ochotników identyfikowano tylko betaninę. W treści jelita grubego (pobranej z części dystalnej) zwierząt doświadczalnych (szczurów) karmionych fermentowanym sokiem z buraka ćwikłowego stwierdzono obecność betacyjanin w stężeniu $39 \pm 12,8$ $\mu\text{g/g}$ treści jelita, co stanowi około 1,6 % dawki pierwotnej. Analiza HPLC wyekstrahowanych z próbek treści jelitowej betacyjanin wykazała obecność głównie betanidyny i izobetanidyny, przy śladowej obecności betaniny, co może wskazywać że betanina całkowicie lub w części została zaabsorbowana, bądź uległa rozkładowi pod wpływem enzymów nabłonka jelitowego i aktywności enzymatycznej mikrobioty jelitowej (rys. 2) [24].



Analiza wykonana z wykorzystaniem kolumny Ace 5 C18, 538 nm; 1 – betanina, 7 – betanidyna, 10 – izobetanidyna. Piki 2-6, 8, 9, 11-14 związki nieoznaczone [24]. Wykorzystano chromatograf ThermoSeparation składający się z systemu Spectra P2000, detektora UV6000LP oraz integratora SN 4000. Analizę wykonano w metodą opisaną przez Stintzing i wsp. [48] z pewnymi modyfikacjami. Warunki rozdzielania były następujące: eluent A składał się z 2 g/1000 ml TFA i 100 g/1000 ml HCOOH (65:35), eluent B uzyskano poprzez zmieszanie 1000 g/1000 ml acetonitrylu i 100 g/1000 ml HCOOH (80:20). Całkowity rozdział betacyjanin prowadzono w ciągu 80 min w temp. pokojowej, przy szybkości przepływu 0,9 ml/min. Przez pierwsze 15 min stosowano izokratyczny przepływ (100 %) eluentu A, a następnie gradient liniowy od 0 do 20 % eluentu B przez 65 min. Betacyjaniny były monitorowane przy długości fali 538 nm.

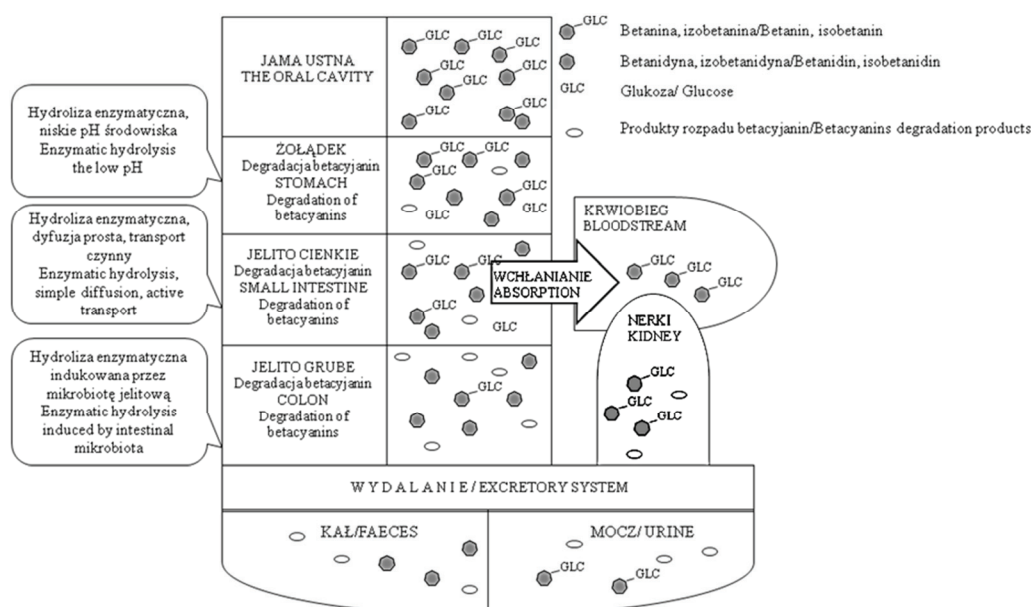
An analysis performed using an Ace 5 C18 column. Determined were: 1– betanin; 7 – betanidin; 10 – isobetanidin. Peaks: 2-6, 8, 9; non-determined compounds: 11-14 [24]. A liquid chromatograph ThermoSeparation was used made up of an Spectra System P2000 pump and a photodiode detector UV6000LP. and an SN 4000 integrator. The analysis was performed using an HPLC method described by Stintzing et al. [48] with a few modifications. HPLC conditions were as follows: eluent A consisted of 2 g/1000 ml TFA and 100 g/1000 ml HCOOH (65:35), and eluent B was prepared by mixing 1000 g/1000 ml acetonitrile and 100 g/1000 ml HCOOH (80:20). A complete separation of betalains was achieved within 80 min at a room temperature and at a flow rate of 0.9 ml/min. During the first 15 min, an isocratic flow of (100%) eluent A was carried out followed by a linear gradient from 0 to 20 % of B eluent during 65 min. Betalains were monitored at a wave length of 538 nm.

Rys. 2. Betanina, betanidyna i izobetanidyna w ekstrakcie wodnym treści jelitowej szczurów spożywających 3 ml/dzień fermentowanego soku z buraka ćwikłowego.

Fig. 2. Betanin, betanidin, and isobetanidin in water extract of intestinal contents in rats consuming 3 ml of fermented juice of beetroot per day.

Betanina, której obecność stwierdza się w osoczu krwi po spożyciu żywności bogatej w betacyjaniny jest glukozydem betanidyny. Śladowe ilości betaniny w treści jelitowej dowodzą, że w formie niezhydrolizowanej może być wchłaniana do krwioobiegu. Na absorpcję betacyjanin przez nabłonek jelita cienkiego mają wpływ mechanizmy transportu podczas wchłaniania jelitowego. Po wstępnym trawieniu w żołądku następuje transport masy pokarmowej do jelita cienkiego, gdzie ma miejsce jego dalsze

trawienie i wchłanianie. Trawienie w jelicie cienkim może odbywać się na powierzchni błony śluzowej, gdzie następnie wchłaniane są końcowe produkty przemian. Najważniejszą rolę we wchłanianiu jelitowym odgrywa dyfuzja prosta. Na tej drodze pobierane są hydrofilowe niskocząsteczkowe związki, które wraz z wodą przenikają przez pory komórek nabłonkowych jelita cienkiego oraz związki hydrofobowe – rozpuszczalne w warstwie lipidowej błony. Pozostałe produkty trawienia są wchłaniane za pośrednictwem transportu czynnego, wymagającego nakładu energii i obecności swoich przemośników [36]. Do chwili obecnej nie wyznaczono schematów transportowych betacyjanin. Stężenie betacyjanin w surowicy krwi jest niewielkie w stosunku do spożytej dawki, co może sugerować o utrudnionym wchłanianiu tych związków. Przypuszcza się, że betacyjaniny są wchłaniane do krwioobiegu w niezmienionej formie i nie ulegają koniugacji z kwasem glukuronowym czy siarczanami, jak ma to miejsce w przypadku innych związków biologicznie aktywnych pochodzenia roślinnego – flawonoidów [15]. Znane są dwa mechanizmy umożliwiające przekroczenie bariery błony jelitowej przez flawonoidy w formie glikozydowej. Pierwszy polega na hydrolizie glikolizowanych flawonoidów przez β -glikozydazy i dalej w formie aglikonów mogą



Rys. 3. Hipotetyczny model przemian i wchłaniania betacyjanin przez człowieka [Opracowano na podstawie: 20, 24, 41, 51].

Fig. 3. Hypothetical model of transformations and absorption of betacyanins by humans [Prepared on the basis of: 20, 24, 41, 51].

być wchłaniane w wyniku dyfuzji prostej. Drugim jest transport glikozydów flawonoidów do enterocytów za pośrednictwem transportera glukozy zależnego od gradientu stężeń jonów sodu (Na^+) [35, 38]. Przypuszcza się, że betanina jest transportowana wg drugiego mechanizmu, określanego jako jelitowy kanał glukozowy, bez wcześniejszego odszczepienia cząsteczki glukozy. Hipotetyczny model przemian i absorpcji betacyjanin przedstawiono na rys. 3.

Przeciwnowotworowy mechanizm działania betacyjanin

Obecnie uważa się, że powstawanie i rozwój nowotworów to nie tylko wynik nagromadzenia mutacji komórkowych, ale również zdolność komórek nowotworowych do „wyłączania” mechanizmów samozniszczenia. Prowadzi to do zwiększenia żywotności komórek i utrwalania zaistniałych mutacji oraz oporności komórek na działanie cytostatyków. W efekcie końcowym następuje ograniczenie zjawiska apoptozy, które prowadzi do szeregu złośliwych chorób proliferacyjnych oraz układu odpornościowego [3]. W badaniach stosowane są testy oceniające poziom genotoksyczności (test Ames, test kometkowy), cytotoksyczności (test MTT, NRU) oraz testy specyficzne określające aktywność enzymatyczną, np. enzymy fazy II procesu detoksykacji czy markery apoptozy. W tab. 1. zestawiono markery, sposób oraz materiał badań dotyczących biologicznej aktywności preparatów z buraka ćwikłowego i betaniny z kaktusów.

W teście Ames wykorzystano zdolność bakterii do rewersji mutacji pod wpływem czynników wywołujących pierwotną mutację. Histrydino-zależne auksotroficzne mutanty bakterii *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ulegają rewersji do form prototroficznych (His^+). Najczęściej stosowanymi szczepami w badaniach mutagenności czynników chemicznych są szczepy *Salmonella* oznaczone symbolami TA98 i TA100. Szczepy te mają mutację operonu histydyny; dla szczepu TA98 jest to mutacja genu D (*hisD3052*) natomiast dla szczepu TA100 mutacja genu G (*hisG46*). Dodatkowo u szczepów *Salmonella* TA98 i TA100 występuje mutacja *rfa*, która powoduje zwiększenie przepuszczalności ściany komórkowej bakterii i umożliwia penetrację związków chemicznych do wnętrza komórki. Delecja *ΔuvrB* powoduje zmniejszenie zdolności naprawy uszkodzeń DNA poprzez wycinanie. Do szczepów TA98 i TA100 wprowadzono dodatkowo plazmid pKM101 (tzw. czynnik R), który warunkuje mutagenezę zależną od systemu błędnej naprawy DNA oraz oporność na ampicylinę [2]. Antymutagenną aktywność fermentowanego soku buraka ćwikłowego, którego głównymi składnikami bioaktywnymi była mieszanina betacyjanin: betanina i betanidyna określiła w swoich badaniach Klewicka [27]. Aktywność antymutagenna soku w dawce 10 μl wynosiła od 50 do 56 % w teście *Salmonella* TA98 i około 55 % w teście *Salmonella* TA100, w zależności od zastosowanego do fermentacji szczepu.

Tabela 1

Markery biologicznej aktywności betacyjanin.
Markers of betacyanins' biological activity.

Test Test	Preparat/Produkt (skład) Preparation/Product (composition)	Literatura References
Test Ames (genotoksyczność) Ames test (genotoxicity)	Sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, neobetanina) Beetroot juice (betanin, isobetanin, neobetanin)	Butz i wsp. [4]
Test Ames (genotoksyczność) Ames test (genotoxicity)	Sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, neobetanina) Beetroot juice (betanin, isobetanin, neobetanin)	Klewicka [27]
Test Ames (genotoksyczność) Ames test (genotoxicity)	Fermentowany sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, betanidyna, izobetanidyna, neobetanina) Lactofermented beetroot juice (betanin, isobetanin, betanidin, isobetanidin, neobetanin)	Klewicka [27]
Test kometkowy (genotoksyczność, linia komórkowa Caco2) Comet test (genotoxicity, cell line Caco2)	Fermentowany sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, betanidyna, izobetanidyna, neobetanina) Lactofermented beetroot juice (betanin, isobetanin, betanidin, isobetanidin, neobetanin)	Klewicka i wsp. [26]
Test MTT (aktywność dehydrogena- zy bursztynianowej), NRU (obec- ność czerwieni obojętnej w żywych komórkach) (cytotoksyczność, linia komórkowa Caco2) MTT test (activity of succinate dehydrogenase), NRU (neutral red in the presence of living cells) (cytotoxicity, cell line Caco2)	Fermentowany sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, betanidyna, izobetanidyna, neobetanina) Lactofermented beetroot juice (betanin, isobetanin, betanidin, isobetanidin, neobetanin)	Klewicka i wsp. [26]
ACF (aberrant crypt foci) (<i>in vivo</i>)	Fermentowany sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, betanidyna, izobetanidyna, neobetanina) Lactofermented beetroot juice (betanin, isobetanin, betanidin, isobetanidin, neobetanin)	Klewicka i wsp. [26]

Aktywacja i indukcja enzymów fazy II (linia komórkowa Hepa 1c1c7) Activation and induction of phase II enzymes (Hepa 1c1c7 cell line)	Ekstrakty z buraków ćwikłowych (ekstrakt czerwonych związków) Extracts from beetroots (red extract compounds)	Wettasinghe i wsp. [55] Lee i wsp. [33]
Aktywacja i indukcja enzymu fazy II - oksydoreduktazy NAD(P)H: chinonowej 1 (NQO1) (<i>in vivo</i>) Activation and induction of phase II enzyme: oxidoreductase NAD (P) H: quinone 1 (NQO1) (<i>in vivo</i>)	Ekstrakty z buraków ćwikłowych (ekstrakt czerwonych związków) Extracts from beetroots (red extract compounds)	Lee i wsp. [33]
Indukcja apoptozy (linia komórkowa K562) Induction of apoptosis (cell line K562)	Betanina (z kaktusa) Betanin (from cactus)	Sreekanth i wsp. [45]
Indukcja aktywności kaspazy – 3 (granulocyty obojętnochłonne PMN) Induction of activity of caspase - 3 (PMN neutrophils)	Sok z buraka ćwikłowego (betanina, izobetanina, neobetanina). Beetroot juice (betanin, isobetanin, neobetanin)	Zielińska – Przyjemaska [56, 57]

Dla porównania ograniczenie rewersji mutantów His⁺ przez sok, który poddano spontanicznej fermentacji wynosił zaledwie 28 % (jako próbę odniesienia 100 % przyjęto aktywność antymutagenną soku świeżego). W soku fermentowanym w sposób spontaniczny następuje ubytek betacyjanin nawet w 80 % [11]. Spowodowane jest to niekontrolowaną fermentacją indukowaną przez endogenną mikrobiotę surowca, która w tych warunkach degradowe czerwone barwniki. W wyniku kontrolowanej fermentacji soku z buraka ćwikłowego, pomimo zmiany proporcji betacyjanin w odniesieniu do świeżego soku, wartość antymutagenna zostaje zachowana. Świadczy to o wysokiej aktywności biologicznej betaniny i betanidyny, które są dominującymi związkami barwnymi po kontrolowanej fermentacji mlekowej [11]. Butz i wsp. [4] wykazali, że niekorzystnym czynnikiem stabilności betacyjanin jest temp. powyżej 80 °C. Poddanie soku działaniu ciśnienia od 400 do 600 MPa w temp. od 25 do 50 °C pozwoliło na zachowanie aktywności antymutagennej soku z buraka ćwikłowego.

Innym testem do określania genotoksyczności środowiska jest test kometkowy, w którym ocenia się uszkodzenia jądrowego DNA za pomocą alkalicznej elektroforezy pojedynczej komórki w żelu. W teście wykorzystuje się różnice szybkości migracji w polu elektrycznym nieuszkodzonego i uszkodzonego DNA jądra komórkowego. Nieuszkodzony DNA w wizualizacji obserwuje się jako głowę komety, natomiast uszkodzony materiał tworzy ciągnący się ogon [34]. Klewicka i wsp. [26], stosując test kometkowy, wykazali ograniczenie genotoksyczności środowiska kałowego

u zwierząt doświadczalnych spożywających fermentowany sok z buraka ćwikłowego o 60 %. Sok podawany zwierzętom zawierał $0,96 \pm 0,002$ mg/ml betacyjanin: betaninę (35 % całkowitego stężenia betacyjanin), betanidynę (40 %) oraz izobetaninę, izobetanidynę i neobetaninę (łącznie 25 %) [11]. Natomiast w wodzie kałowej dominowała betanidyna i izobetanidyna przy śladowej ilości betaniny [24]. Można przypuszczać, że betanidyna i izobetanidyna wykazują bioaktywne i ochronne działanie na jądrowe DNA komórki.

Testy cytotoksyczności pozwalają na określenie zmian powstałych w żywych komórkach, np.: ocenę integralności błon komórkowych czy aktywność enzymatyczną wybranych organelli komórkowych. Do takich testów zalicza się test z czerwienią obojętną (NRU), który polega na przenikaniu czerwieni do wnętrza żywych komórek i gromadzeniu się w lizosomach. Natomiast w teście MTT miernikiem żywotności komórek jest aktywność dehydrogenazy bursztynianowej. Enzym ten zlokalizowany jest w mitochondriach żywych komórek i przekształca rozpuszczalną sól tetrazoliową (bromek 3-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenylo-tetrazoliowy) w formę zredukowaną, czyli nierozpuszczalny formazan wytrącający się w postaci kryształów [8, 54]. Badania cytotoksyczności wody kałowej szczurów spożywających fermentowany sok z buraka ćwikłowego testami MTT i NRU na linii komórkowej Caco2 nie wykazały ochronnych właściwości betacyjanin [26].

W transformacji i eliminacji związków toksycznych z komórki uczestniczą dwie grupy enzymów. Enzymy fazy I należą do rodziny cytochromu P-450. Rolą enzymów fazy I jest przygotowanie związku toksycznego do dalszych przemian. W II etapie detoksykacji szczególną rolę odgrywają: S-transferaza glutationu (GST), oksydoreduktaza NAD(P)H: chinonowa 1 (NQO1), UDP-glukuronylotransferaza (UGT). Przemiany z udziałem wymienionych enzymów zwiększają rozpuszczalność ksenobiotyków w wodzie i ułatwiają ich wydalanie [29, 42]. Aktywności wymienionych enzymów w szczególności enzymy fazy II są wykorzystywanymi przez badaczy markerami detoksykacji komórek, szczególnie w obecności związków toksycznych. Badania mechanizmów działania betacyjanin z buraków ćwikłowych przeprowadziła grupa badawcza Wettasinghe i wsp. [55] na linii komórkowej Hepa 1c1c7 (komórki nowotworowe wątroby). Wykazali, że betacyjaniny indukują enzymy fazy II, w szczególności reduktazę chinonową (QR) (wg obecnej nomenklatury oksydoreduktaza NAD(P)H: chinonowa 1) (NQO1) [42, 55]. Badania przeprowadzone przez Lee i wsp. [33] potwierdziły, że indukcja aktywności NQO1 w komórkach Hepa 1c1c7 następuje tylko pod wpływem frakcji związków czerwonych (betacyjanin). W przypadku żółtych barwników (betaksantyn) nie zaobserwowano takiego efektu. Ta sama grupa badawcza w badaniach *in vivo* na szczurach wykazała, wyższą aktywność NQO1 w porównaniu z grupą kontrolą, w komórkach tkanek: jelita grubego, nerek, wątroby i płuc zwierząt, które otrzymywały ekstrakty betacyjanin.

Sreekanth i wsp. [45], stosując jako model eksperymentalny komórki białaczki K562 wykazali, że betanina pochodząca z kaktusa, po wnikięciu do wnętrza komórki może indukować procesy apoptozy i ograniczać namnażanie komórek nowotworowych. Komórki wykazywały typowe cechy morfotyczne apoptozy (kondensacja chromatyny, fragmentacja jądra, tworzenie ciałek apoptotycznych). W analizie wykonanej w mikroskopie konfokalnym potwierdzono, że betanina jest transportowana do wnętrza komórki. W żelu agarozowym stwierdzono fragmentację DNA na krótkie odcinki o długości 180 - 200 par zasad. Apoptoza jest procesem zaprogramowanym genetycznie i służącym do eliminacji komórek w danym momencie zbędnych lub uszkodzonych. Śmierć komórek może następować również w wyniku nekrozy. Nekroza wywołana jest poprzez, np. mechaniczne uszkodzenie komórki w wyniku działania promieniowania UV lub toksycznych związków chemicznych. W odróżnieniu od procesu nekrozy, cytoplazma oraz zawartość organelli komórki ulegającej apoptozie nie zostają uwolnione do przestrzeni międzykomórkowej, a ciała apoptotyczne zostają sfagocytowane przez otaczające komórki lub makrofagi. W procesie apoptozy nie dochodzi do naciekania tkanki przez granulocyty i makrofagi, i w konsekwencji do stanu zapalnego tkanki, co ma miejsce w przypadku nekrozy [12, 13, 44]. Apoptoza może przebiegać w różny sposób, jednakże wyróżnia się dwa główne mechanizmy. Pierwszy sposób, to cykl przemian indukowany sygnałem pochodzącym z zewnątrz komórki, który jest związany z aktywacją błonowych „receptorów śmierci”, należących do nadrodziny receptorów czynnika martwicy nowotworów TNFR (tumor necrosis factor receptor). Druga droga inicjacji apoptozy – szlak wewnątrzkomórkowy, przebiega z udziałem mitochondriów i wymaga uwolnienia cytochromu c do cytoplazmy. Cząsteczki cytochromu c w zdrowych komórkach nie przedostają się do cytoplazmy, gdyż nie mogą pokonać bariery błon mitochondrialnych. W utrzymaniu prawidłowej przepuszczalności błon biorą udział białka rodziny Bcl-2 [16, 32]. W obu szlakach dochodzi do pobudzenia szeregu białek pośredniczących w przekazywaniu sygnału apoptotycznego i aktywacji enzymów zwanych kaspazami [39, 44]. Uwolniony do cytoplazmy cytochrom c wraz z białkiem Apaf-1 (apoptotic protease activating factor-1) i ATP tworzy strukturę zwaną apoptosomem. Oligomeryzacja białka Apaf-1 i przyłączenie szeregu cząstek prokaspazy-9, które ulegają samoaktywacji prowadzi do powstania długotrwałej struktury aktywnej katalitycznie. Rolą apoptosomu jest aktywacja kaspazy-3, zasadniczego enzymu wykonawczego procesu apoptozy [23, 44]. Kaspaza-3 jest odpowiedzialna za kondensację chromatyny, degradację DNA oraz rozkład wielu substratów (wimentyny, topoizomerazy I, białka STAT-1, gelsoliny, α -fodryny, PARP). Dzięki mnogości substratów kaspaza-3 jest najważniejszą spośród kaspaz wykonawczych. Przypuszcza się, że pomiar jej aktywności może służyć do oceny nasilenia procesu apoptozy [28]. Zielińska-Przyjemaska i wsp. [56, 57] stwierdzili, że sok buraka ćwikłowego w stężeniu 0,1 – 50 % (v/v) po 24-godzinnej hodowli niestymulowanych

i stymulowanych komórek ludzkich granulocytów obojętnochłonnych (PMN) indukuje zarówno spontaniczną apoptozę PMN, jak i stymulowaną estrem forbolu. Natomiast aktywność kaspazy-3 w 2-godzinnej hodowli PMN w obecności soku z buraka ćwikłowego nie różniła się od wartości notowanych w próbie kontrolnej. Zauważyli ponadto zależną w czasie indukcję aktywności kaspazy-3 przez składniki soku z buraka ćwikłowego [56, 57].

W przedstawionych powyżej pracach omawiających możliwy przeciwnowotworowy mechanizm działania betacyjanin zastosowane były różnorodne testy i różnego pochodzenia betacyjaniny o różnorodnym składzie barwników czerwonych. Większość z tych testów była przeprowadzana w warunkach *in vitro*. Badania te nie uwzględniają przemian, jakim mogą ulegać betacyjaniny podczas pasażu przez przewód pokarmowy czy podczas wchłaniania i wydalania metabolitów tych związków. Niemniej są one bardzo pomocne w dalszym projektowaniu badań na poziomie *in vivo*. Konkludując, wyłania się koncepcja wielokierunkowego prewencyjnego działania betacyjanin:

- ochrona materiału genetycznego komórki, która ma bezpośredni kontakt z betacyjaninami,
- detoksykacja komórek poprzez indukcję i aktywację enzymów fazy II,
- ograniczenie proliferacji komórek nowotworowych, poprzez możliwy indukowany proces apoptozy.

Aby potwierdzić pozytywne (ochronne) działanie czynników żywieniowych niezbędne są badania *in vivo*, w pierwszej kolejności zawsze na modelu zwierzęcym. Modelem do oceny przeciwnowotworowych właściwości czynników żywieniowych lub chemioterapeutyków jest chemiczna indukcja aberracji krypt jelita grubego (ACF) u zwierząt (zazwyczaj u szczurów). W badaniach Klewickiej i wsp. [26] zastosowano chemiczny model indukowania zmian ACF przez N-nitrozo-N-metylomocznik (MNU) wg Tache i wsp. [50]. Jako biomarkery efektu mutagennego MNU stosowano ilość i wielkość zmian ACF. W grupie zwierząt, w której indukowano zmiany ACF stwierdzono w jelicie grubym (część dystalna i proksymalna) 55 ± 18 zmian przy czym 45 ± 21 sklasyfikowano jako duże zmiany (4 i powyżej, krypt w ognisku). W grupie zwierząt spożywających 3 ml fermentowanego soku buraczanego obok MNU, przez cały okres doświadczenia ilość zmian ACF jelita kształtowała się na poziomie 21 ± 6 całkowitej liczby zmian w tym 7 ± 4 zaklasyfikowano jako duże zmiany. Stwierdzono więc ograniczenie ilości i wielkości zmian ACF w wyniku spożywania fermentowanego soku z buraka ćwikłowego, będącego źródłem betacyjanin.

Przedstawione nieliczne badania nad mechanizmem działania betacyjanin na komórki nowotworowe są badaniami pionierskimi, wymagają kontynuacji i poszerzenia wiedzy o wewnątrzkomórkowych interakcjach prowadzących do ograniczania nieprawidłowych procesów zachodzących na poziomie komórki.

Podsumowanie

Warzywa (burak ćwikłowy – *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) i owoce kaktusów (*Hylocereus* sp., *Opuntia* sp.) zawierające bioaktywne betacyjaniny są częścią diety człowieka. Biodostępność betacyjanin jest mała, co może być spowodowane częściową degradacją w przewodzie pokarmowym, jak również utrudnionym wchłanianiem w jelicie cienkim. W osoczu krwi po spożyciu żywności bogatej w betacyjaniny oznacza się stężenia na poziomie mikromolarnym. Pomimo małych stężeń betacyjanin w krwiobiegu człowieka obserwuje się ograniczenie procesów utleniania lipidowej warstwy membran komórkowych [19]. Dodatkowo, związki te biorą udział w szlakach aktywacji enzymów fazy II, odpowiedzialnych za detoksykację komórek i usuwanie ksenobiotyków [29]. W przypadku betaniny wiadomo, że może aktywować ona mitochondrialny szlak apoptozy komórek nowotworowych [45]. Regularne spożywanie żywności bogatej w betacyjaniny może prowadzić do ograniczenia występowania chorób degeneracyjnych, powstających w wyniku uszkodzenia strukturalnego komórek w tkankach narządów.

Literatura

- [1] Allegra M., Tesoriere L., Livera M.A.: Betanin inhibits myeloperoxidase/nitrite-induced oxidation of human low-density lipoproteins. *Free Radic. Res.*, 2007, **41**, 335-341.
- [2] Ames B.N., McCann J., Yamasaki E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mut. Res.*, 1975, **31**, 347-364.
- [3] Arends M.J., Wyllie A.H.: Apoptosis: mechanism and roles in pathology. *Int. Rev. Exp. Path.*, 1991, **32**, 223-254.
- [4] Butz P., Edenharder R., Fisher H., Tauscher B.: The influence of high pressure processing on anti-mutagenic activities of fruit and vegetable juices. *Food Res. Int.*, 1997, **3/4**, 287-291.
- [5] Cai Y., Sun M., Corke H.: Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 2288-2294.
- [6] Cai Y.-Z., Sun M., Corke H.: Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends in Food Sci. Technol.*, 2005, **16**, 370-376.
- [7] Chethana S., Chetan A., Nayak, Raghavarao K.S.M.S.: Aqueous two phase extraction for purification and concentration of betalains. *J. Food Eng.*, 2007, **81**, 679-687.
- [8] Chiba K., Kawakami K., Tohyama K.: Simultaneous evaluation of cell viability by neutral red, MTT and crystal violet staining assays of the same cells. *Toxicology in Vitro*, 1998, **12**, **3**, 251-258.
- [9] Czapski J.: Naturalne przeciwutleniacze w żywności. Betalainy. W: *Przeciwutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne*. Red. W. Grajek. WNT, Warszawa 2007, ss., 158-163.
- [10] Czapski J., Mikołajczyk K., Kaczmarek M.: Relationship between antioxidant capacity of red beet juice and contents of betalin pigments. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009, **59** (**2**), 119-122.
- [11] 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.*, 2006, **223**, 110-116.
- [12] Darzynkiewicz Z., Gorczyca W., Ardeli B., Halicka D., Juan G., Traganos F.: Cytometria apoptozy i martwicy. *Central Eur. J. Immunol*, 1996, **21**, S156-S170.

- [13] Darzynkiewicz Z., Juan G., Xun L.I. Gorczyca W., Murakami T., Traganos F.: Cytometry in cell necrobiology: Analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis). *Cytometry*, 1997, **27**, 1-20.
- [14] Delgado-Vargas F., Jimenez A.R., Lopez O.P.: Natural pigments: carotenoids, anthocyanins and betalains – characteristics biosynthesis processing and stability. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 2000, **40** (3), 173-289.
- [15] Frank T., Stintzing F.C., Carle R., Bitsch I., Quaaas D., Straß G., Bitsch R., Netzel M.: Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy human. *Pharmacol. Res.*, 2005, **52**, 290-297.
- [16] Green D.R., Reed J.C.: Mitochondria and apoptosis. *Science*, 1998, 281, **28**, 1309-1312.
- [17] Havlikova L., Mikova K., Kyzlink V.: Heat stability of betacyanins. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1983, **177**, 247-270.
- [18] Herbach K.M., Stintzing F.C., Carle R.: Betalain stability and degradation – structural and chromatic aspects. *J. Food Sci.*, 2006, **71** (4), R41-R50.
- [19] Kanner J., Harel S., Granit R.: Betalains - A new class of dietary cationize antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49** (11), 5178-5185.
- [20] Kapadia G.J., Azuine M.A., Sridhar R., Okuda Y., Tsuruta A., Ichiishi E., Mukainake T., Takasaki M., Konoshima T., Nishino H., Tokuda H.: Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR 1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacol. Res.*, 2003, **47**, 141-148.
- [21] 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.*, 2011, **56** (3), 206-210.
- [22] Kidoń M., Czapski J.: Wpływ obróbki termicznej na zawartość barwników betalainowych i ich zdolność przeciwutleniającą buraka ćwikłowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **1** (50), 124-131.
- [23] King M.A., Radicchi-Mastroiani M.A.: Antimycin A – induced apoptosis of HL-60 cells. *Cytometry*, 2002, **49**, 106-112.
- [24] Klewicka E. Dane niepublikowane.
- [25] Klewicka E., Laskowska J., Libudzisz Z.: Fermentowany sok z buraka ćwikłowego i jego aktywność przeciwutleniająca. *Mat. Konf. pt. Żywnienie a zdrowie – interakcje*. Kraków 2005, ss. 55.
- [26] Klewicka E., Nowak A., Zduńczyk Z., Cukrowska B., Błasiak J.: Protective effect lactofermented beetroot juice against aberrant crypt foci formation and genotoxicity of fecal water rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 2011, doi: 10.1016/j.etp.2010.12.001.
- [27] Klewicka E.: Fermented beetroot juice as a factor limiting chemical mutation induced by MNNG in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA 100 strains. *Food Technol. Biotechnol.*, 2010, **48** (2), 229-233.
- [28] Korzeniowska-Dyl I.: Kaspazy – struktura i funkcja. *Pol. Merk. Lek.*, 2007, XXIII, **138**, 403-407.
- [29] Krajka-Kuźniak V.: Indukcja enzymów II fazy jako strategia chemioprewencji nowotworów i innych schorzeń degeneracyjnych. *Postępy Hig. Med., Dośw.*, 2007, **61**, 627-638.
- [30] Kugler F., Stintzing F.C., Carle R.: Characterisation of betalain patterns of differently coloured inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC-DAD-ESI-MS. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **387**, 637-648.
- [31] 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 three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 5338-5342.
- [32] Kwiecińska J., Reśliński A., Gospodarek E., Grzanka A.: Rola pałeczek gram-ujemnych w indukcji/regulacji apoptozy. *Post. Mikrobiol.*, 2007, **46**, 2, 125-137.

- [33] Lee, C.H., Wettasinghe, M., Bolling, B.W., Ji, L.L., Parkin, K.L.: Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutr. Cancer*, 2005, **53**, 91-103.
- [34] McKelvey-Martin V.J., Green M.H.L., Schmezer P., Pool-Zobel B.L., De Meo P.M., Collins A.: The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. *Mutat. Res.*, 1993, **288**, 47-63.
- [35] Moreno D.A., Garcia-Viguera C., Gil J.I., Gil-Izquiero A.: Betalains in the era of global agr-food science, technology and nutrition health. *Phytochem. Rev.*, 2008, **7**, 261-280.
- [36] Nayak C.A., Chethana S., Rastogi N.K., Raghavarao K.S.M.S.: Enhanced mass transfer during solid-liquid extraction of gamma irradiated red beetroot. *Radiat. Phys. Chem.*, 2006, **75**, 173-178.
- [37] Piasek A., Bartoszek A., Namieśnik J.: Substancje pochodzenia roślinnego przeciwdziałające kardiotoksyczności towarzyszącej chemioterapii nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009, **63**, 142-158.
- [38] Piskula M.K.: Wchłanianie i metabolizm flawonoidów. W: *Przeciwoutleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne technologiczne molekularne i analityczne*. Red. W. Grajek. WNT, Warszawa. 2007, ss. 366-370.
- [39] Radziszewska E., Piwocka K., Skierski J.: UVC-induced cell death of IL-2-dependet human lymphocytes. *Cell. Biol. Int.*, 1999, **23**, 97-103.
- [40] Rakin M., Vukasinovic A., Siler-Marinkovic S., Maksimovic M.: Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chem.*, 2007, **100**, 599-602.
- [41] Reynoso R.C., Giner T.V., Gonzalez De Mejia E.: Safety of filtrate of fermented garambullo fruit: biotransformation and toxicity studies. *Food Chem. Toxicol.*, 1999, **37**, 825-830.
- [42] Ross D.: Quinone reductases multitasking in the metabolic world. *Drug Metab. Rev.*, 2004, **36**, 639-654.
- [43] Saguy I., Kopelman I.J., Mizrahi S.: Thermal kinetic degradation of betanin and betalamic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 1978, **26**, 360-362.
- [44] Skierski J.: Badanie działania cytotoksycznego substancji chemicznych. *Post. Biol. Kom.*, 2008, **35**, 147-163.
- [45] Sreekanth D., Arunasree M.K., Roy K.R., Reddy T.Ch., Reddy G.V., Reddanna P.: Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus-indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leucemia cell line-K562. *Phytomedicine*, 2007, **14**, 739-746.
- [46] Stintzing F.C., Schieber A., Carle R.: Evaluation of color properties and chemical quality parameters of cactus juices. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 303-311.
- [47] 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.
- [48] Stintzing F.C., Schieber A., Carle R.: Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L) Mill.] by high performance liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 2302-2307.
- [49] Strack D., Vogt T., Schliemann W.: Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 2003, **62**, 247-269.
- [50] Tache S., Ladam A., Corpet DE.: Chemoprevention of aberrant crypt foci in the colon of rats by dietary onion. *Eur. J. Cancer*, 2007, **43**, 454-458.
- [51] Tesoriere L., Allegra M., Butera D., Livrea M.A.: Absorption, extraction and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: potential health effects of betalains in human. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2004, **80**, 941-945.
- [52] Tesoriere L., Allegra M., Gentile C., Livrea M.A.: Betacyanins as phenol antioxidants. Chemistry and mechanistic aspects of lipoperoxyl radical-scavenging activity in solution and liposomes. *Free Radic. Res.*, 2009, **(43) 8**, 706-717.

- [53] Tesoriere L., Butera D., D'Arpa D., Di Guadio F., Allegra M., Gentile C. Livera M.A.: Increased resistance to oxidation of betalain –enriched human low density lipoproteins. *Free Radic. Res.*, 2003, **37**, 689-696.
- [54] Vistica D.T., Skehan P., Scudiero D. Monks A., Pittman A., Boyd M.R.: Tetrazolium-based assays for cellular viability: a critical examination of selected parameters affecting formazan production. *Cancer Res.*, 1991, **51**, **10**, 2515-2520.
- [55] Wettasinghe M., Bolling B., Plhak L. Xiao H., Parkin K.L.: Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 6704-6709.
- [56] Zielińska-Przyjemska M., Olejnik A., Dobrowolska-Zachwieja A., Grajek W.: *In vitro* effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytother. Res.*, 2009, **23**, 49-55.
- [57] Zielińska-Przyjemska M., Olejnik A., Grajek W.: Wpływ soku z buraka ćwikłowego i aronii *in vitro* na metabolizm tlenowy i apoptozę ludzkich granulocytów obojętnochłonnych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, **2** (**51**), 174-186.

BETACYANINS – BIOAVAILABILITY AND BIOLOGICAL ACTIVITY

S u m m a r y

In the paper there are discussed the structure and properties of red betalain pigments: betacyanins, occurring in the plants belonging to certain families of the Caryophyllales order. People consume the betacyanins containing plants either raw or in the form of canned food and vegetable concentrates. Moreover, the extracts of betacyanin pigments are added to food products as natural colouring preparations. In Europe, the beetroot (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*) is the most popular source of betacyanins. In this paper, the biological activity of those compounds was highlighted as were probable mechanisms of their effects on the human body. A possible absorption and circulation model of betacyanins in the human body was suggested. Furthermore, some data were presented, which referred to anticancer activity of betacyanins and their role in preventing degenerative diseases and cancer.

Key words: betacyanins, betanin, antioxidant activity, bioavailability ☒