

**KIBEDUST PÕHJUSTAVATE ÜHENDITE SENSOORNE JA
INSTRUMENTAALNE ANALÜÜS KAERAS JA HERNES**

Magistritöö

Üliõpilane: Grete Metsoja

Juhendaja:
Helen Vaikma
Tööstusdoktorant, TFTA
AS ja Tallinna
Tehnikaülikool

Kaasjuhendaja:
Anastassia Bljakhina
Tööstusdoktorant, TFTA
AS ja Tallinna
Tehnikaülikool

Õppekava: KATM 02/18 –
Toidutehnoloogia ja -
arendus

AUTORIDEKLARATSIOON

Kinnitan, et olen koostanud antud lõputöö iseseisvalt ning seda ei ole kellegi teise poolt varem kaitsmisele esitatud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on töös viidatud.

Autor: Grete Metsoja

[allkiri ja kuupäev]

Töö vastab magistritööle esitatavatele nõuetele.

Juhendaja: Helen Vaikma

[allkiri ja kuupäev]

Kaasjuhendaja: Anastassia Bljaghina

[allkiri ja kuupäev]

Töö on lubatud kaitsmisele.

Kaitsmiskomisjoni esimees: Toomas Paalme

[allkiri ja kuupäev]

Sisukord

Annotatsioon.....	5
Abstract	6
Kasutatud lühendite ja terminite loetelu	7
Sissejuhatus.....	8
1. Kirjanduse ülevaade	10
1.1 Toidu sensoorne tajumine	10
1.1.1 Sensoorsed aistingud söömisel	10
1.1.2 Maitsmiselundi ehitus ja retseptorrakkude tüübid	10
1.2 Kibedus	11
1.2.1 Kibeduse retseptorid.....	11
1.2.2 Kibeduse aistingu tekkemehhanism	12
1.2.3 Kibedate ühendite mitmekesisus.....	13
1.2.4 Kibeduse tajumise varieeruvus	14
1.3 Taimsed valgud ja alternatiivtooted.....	16
1.3.1 Hernes taimse valguallikana.....	16
1.3.2 Kaer taimse valguallikana.....	17
1.4 Meetodid kibeduse määramiseks	18
1.4.1 Sensoorne analüüs	18
1.4.2 Instrumentaalne analüüs	19
1.5 Uurimistöö eesmärk.....	20
2. Materjalid ja meetodid.....	21
2.1 Treenitud assessorite kibeduse tajumine kaera- ja hernetoodetes ning standardühendites	21
2.1.1 Metoodika arendus	21
2.1.2 Materjalid	22
2.1.3 Meetodid.....	23
2.2 Tarbijate kibeduse tajumine kaeras ja hernes	24
2.2.1 Materjalid.....	24
2.2.2 Meetodid.....	24
2.3 Rasvhapete analüüs kaera- ja hernenproovides UPLC-MS meetodil	24
2.3.1 Materjalid.....	24
2.3.2 Meetodid.....	24
2.4 Saponiinide analüüs kaera ja hernenproovides HILIC-MS meetodil	25

2.4.1 Materjalid.....	25
2.4.2 Meetodid.....	25
2.5 Andmeanalüüs.....	26
3. Tulemused ja arutelu.....	28
3.1 Treenitud assessorite kibeduse tajumine kaera- ja hernetoodetes ning standardühendites	28
3.2 Tarbijate kibeduse tajumine kaeras ja hernes	31
3.3 Kaera- ja hernetoodete kibedate ühendite sisaldus ning seosed kibeduse tajumisega	32
3.4 Limitatsioonid.....	33
Järeldused	34
Kokkuvõte.....	35
Tänuavaldused	36
Kasutatud kirjandus.....	37
Lisad.....	45
Lisa 1 – Sensorse analüüsi hindamisleht.....	45
Lisa 2 – Tarbijakatse hindamisleht	46
Lisa 3 – Rasvhapete analüüsil kasutatud gradientelueerimise parameetrid	47
Lisa 4 – Sensorse analüüsi andmed.....	48
Lisa 5 – Tarbijakatse andmed	49

Annotatsioon

Käesoleva magistritöö eesmärk oli analüüsida, kuidas tajutakse kaeras ja hernes olevat kibedust sensoorselt ning leida, milliste ühenditega on kaera- ja hernetoodete kibeduse tajumine seotud. Töö raames teostati instrumentaalanalüüsid kaeras ja hernes olevate kibedate võtmeühendite sisalduse määramiseks. Saponiinide sisalduse määramiseks kaera- ja hernetoodetes kasutati HILIC-MS meetodit ning rasvhapete sisalduse määramiseks UPLC-MS meetodit. Viidi läbi sensoorse analüüsi katse kaheteistkümne treenitud assessoriga, et hinnata ja võrrelda herne- ja kaeratoodete, nendes sisalduvate kibedate rasvhapete ning klassikaliste kibeduse standardühendite kofeiini, kiniini ja L-trüptofaani kibeduse tajumise varieerumist. Teostati tarbijauuring saja inimesega, et hinnata kaeras ja hernes sisalduva kibeduse tajumise varieerumist populatsiooni seas ning võrrelda segatoiduliste ja taimtoiduliste inimeste kibeduse tajumist.

Töö tulemusena saadi teada, et klassikaliste kibeduse standardite kofeiini, kiniini ja L-trüptofaani puhul oli kibeduse tajumise varieerumine väiksem, võrreldes kaera- ja hernetoodete ning rasvhapetega. Leiti, et kaera kibeduse tajumisega on seotud alfa-linoleenhape ning vähemal määral linoolhape. Antud ühendeid sisaldus enam kaerajahus, mida tajuti sensoorselt kibedamana, kui kaeravalgus. Kaera kibedust tajuti üldiselt vähem intensiivsemana kui herne kibedust. Kuna klassikaliste standardühendite ning kaera- ja hernetoodete kibeduse tajumise mustrid olid erinevad ning ei korreleerunud omavahel, siis ei ole antud ühendid sobivad standarditena kasutamiseks kaeras ja hernes oleva kibeduse sensoorsel kirjeldamisel. Kaera- ja hernetoodete kibeduse sensoorsel analüüsil tuleb valida sobivad standardid vastavalt tooraines sisalduvatele kibedatele ühenditele ning antud töös leiti, et kaera sensoorset kibedust kirjeldas hästi alfa-linoleenhappe kibedus. Sensoorse analüüsi paneeli koosseisu tuleb assessoreid valida vastavalt võimekusele kirjeldada sensoorset kibedust konkreetsetes toormaterjalides, mida sisaldavaid proove soovitakse sensoorselt hinnata. Populatsiooni kaera ja herne kibeduse tajumist uurides leiti, et hernes olevat kibedust tajutakse üldiselt intensiivsemalt kui kaeras olevat kibedust. Nii tarbijate kui sensoorse analüüsi paneeli seas oli kaera kibedusele tundlike inimeste osakaal madal. Segatoiduliste ja taimtoiduliste võrdluses ei erinenud tarbijate kibeduse tundlikkus kummagi tooraine lõikes. Käesoleva töö tulemused andsid teadmised olulistest teguritest, mida tuleks arvesse võtta sensoorsel kibeduse analüüsimisel kaera- ja hernetoodetes ning üldisemalt kibeduse sensoorsel analüüsil. Tarbijauuringu tulemused on oluliseks sisendiks tulevastele tootearendustele, et luua paremate sensoorsete omadustega taimseid alternatiivtooteid, mida tarbijad sooviksid osta.

Abstract

Sensory and instrumental analysis of compounds causing bitterness in oat and pea

The aim of the master's thesis was to analyze how bitterness is perceived in oats and peas sensorially and to find which compounds are related to the sensory perception of bitterness in oat and pea products. Instrumental analyzes were carried out in order to determine the content of bitter key compounds in oat and pea products. HILIC-MS method was used to determine the content of saponins and UPLC-MS method was used to determine the content of fatty acids in oat and pea products. Sensory analysis was conducted with twelve trained assessors to evaluate and compare the variation in bitterness perception of pea and oat products, bitter fatty acids and bitterness standard compounds caffeine, quinine and L-tryptophan. Consumer study was conducted with one hundred participants to assess the variation in perception of bitterness in oats and peas among the population. In addition, perception of bitterness among people following omnivore and plant-based diets was compared.

Variation in perception of bitterness was smaller in case of caffeine, quinine and L-tryptophan, compared to oat and pea products and fatty acids. Alpha-linolenic acid and linoleic acid, to a lesser extent, were found to be related to the perception of bitterness in oats. These compounds were more abundant in oat flour, which was sensorially perceived as more bitter than oat protein. Oat bitterness was generally perceived less intense than pea bitterness. Since the patterns of bitterness perception of standard compounds and oat and pea products were different and did not correlate with each other, it was concluded that these compounds are not suitable to be used as standards for sensory analysis of bitterness in oats and peas. When conducting sensory analysis of plant-based products, suitable references must be selected according to the bitter compounds present in the raw material. In this work it was demonstrated that the sensory bitterness of oats was well characterized by the bitterness of alpha-linolenic acid. Assessors for the sensory analysis must be selected according to their ability to describe sensory bitterness in specific raw materials. When studying the perception of bitterness in oats and peas among the population, it was observed that the bitterness in peas was generally perceived more intensely than the bitterness in oats. Among both consumers and the sensory analysis panel, the percentage of people sensitive to the bitterness of oats was low. Bitterness sensitivity did not differ between consumers following plant-based and omnivore diets. The results of this work provided important knowledge about the factors that should be considered when analysing sensory bitterness in oat and pea products as well as in general in the sensory analysis of bitterness. The results of the consumer study give important input for future product developments to create plant-based alternative products with better sensory properties that consumers would like to buy.

Kasutatud lühendite ja terminite loetelu

ANOVA – dispersioonanalüüs (*Analysis of Variance*)

BHT – butüülhüdrosütolueen

DAG – diatsüülgütserool

DoT faktor – ühendi sensoorne aktiivsus tootes. Proovis sisalduva ühendi kontsentratsiooni ning ühendi maitaseläve kontsentratsiooni suhe (*dose-over-threshold factor*)

GPCR – G-valguga seotud retseptor (*G-protein-coupled receptor*)

HILIC-MS – hüdrofiilse interaktsiooni vedelikkromatograafia-massispektromeetria (*hydrophilic interaction liquid chromatography mass spectrometry*)

HPLC – kõrgsurvevedelikkromatograafia (*high-performance liquid chromatography*)

IP3 – 1,4,5-trifosfaat

IPA – isopropüülalkohol

m/z – massi-laengu suhe

MeCN – atsetonitriil

MPLC – kesksurve vedelikkromatograafia (*medium pressure liquid chromatography*)

MQ – milliQ vesi

NTS – *nucleus tractus solitarius*

PIP2 – inositol fosfolipiid

PLC β 2 – fosfolipaas C β 2

Polümorfism – Polümorfism on kahe või enama spetsiifilise DNA järjestuse (alleeli) esinemine, mis võib esineda erinevate indiviidide või populatsioonide seas

PROP – 6-N-propüülouratsiil

Pseudogeen – geen, mille pealt ei ole võimalik valku toota

PTC – fenüülitiokarbamiid

RF – vastusfaktor (*response factor*)

UPLC-MS – ultraefektiivne vedelikkromatograafia-massispektromeetria (*ultra performance liquid chromatography mass spectrometry*)

Sissejuhatus

2022. aastal ületas inimeste populatsioon kaheksa miljardi piiri (Gaigbe-Togbe et al., 2022). Planeedi rahvaarvu kiire tõus on endaga kaasa toonud kasvava vajaduse jätkusuutlikumate valguallikate järele. Võrreldes taimse valgu tootmisega, vajab loomse valgu tootmine enam põllumajanduslikku maad, veeressurssi ning on suuremaks kasvahoonegaaside tekitajaks. Samuti on loomse valgu toomisel suureks probleemiks antibiootikumide liigkasutamine loomakasvatuses ja selle tõttu süvenev antibiootikumiresistentsus (Bryant, 2022; GFI; Kumar et al., 2017). Kala kui loomse valguallika puhul on suureks murekohaks halvad vesiviljeluse praktikad, sealhulgas ülepuük, mis kahjustab mere ökosüsteemi (Serkissian, 2019).

Liigne liha, eeskätt punase liha, tarbimine toob endaga kaasa kõrge riski teatud haiguste tekkele, nagu näiteks südame-veresoonkonna haigused, pärasoolevähk ja II tüüpi diabeet (Battaglia Richi et al., 2015). Võrreldes riiklike toitumissoovitustega, tarbib keskmine Eesti inimene oluliselt rohkem lihatooteid kui peaks (Tervise Arengu Instituut, 2020). Teatud osa lihatoodete asendamine taimse valguga aitaks vähendada eelpool mainitud terviseriskide esinemise tõenäosust. Lisaks aitaks taimse toidu osakaalu suurendamine menüüs rikastada inimeste toidulauda kiudainetega (Bryant, 2022), mida Eesti inimesed liiga vähe tarbivad (Adamberg et al., 2020).

Veganismi, vegetaarluse ja fleksitaarluse populaarsus ning tarbijate nõudlus taimsete alternatiivtoodete järele on aasta-aastalt suurenemas (FAO, 2022). Taimsetest valkudest valmistatud piima- ja lihatoodete alternatiive on turul juba tänasel päeval laialdaselt saada, kuid üheks oluliseks puuduseks taimsete alternatiivtoodete puhul on sensoorsed omadused. Paljud taimsed toorained, mida alternatiivtoodetes kasutatakse, sisaldavad kibeda maitsega ühendeid. Kibeduse aistingut peetakse eeskätt kaitsemehhanismiks, mis aitab organismil hoiduda mürgiste ühendite söömisest. Teisalt on paljude kibedate ühendite puhul täheldatud hoopis tervisele kasulikke mõju, mistõttu ei ole taimedes tajutav kibedus alati toksilisuse adekvaatseks indikaatoriks (Aliani & Eskin, 2017; Nissim et al., 2017). Kuna inimeste tundlikkus kibedusele on varieeruv, siis muudab see taimsete alternatiivtoodete arenduse keerukamaks. Kibedate ühendite ja kibeduse tundlikkuse uurimine taimsete alternatiivtoodete arenduste võtmes on oluline teema saamaks aru, kas ja kuidas on võimalik taimsete alternatiivtoodete sensoorseid omadusi parandada. Heade sensoorsete omadustega alternatiivtoodete suunaksid tarbijaid tegema rohkem taimseid valikuid ja vähendada loomse toidu osakaalu oma toidulaul.

Käesoleva töö fookuses on taimsete toormaterjalide seast hernes ja kaer. Hernes on juba tänasel päeval laialdaselt kasutatav tooraine taimsetes alternatiivtoodetes kõrge valgusisalduse tõttu. Kaeras on valgusisaldus väiksem kui hernes, kuid kaer on see-eest väga hea kiudainete allikas. Kui taimsetes alternatiivtoodetes tihti kasutatavate toorainete soja ja nisu puhul on väga levinud allergia mainitud toorainetes sisalduvate valkude vastu, siis kaera- ja herneallergia on vähem levinud. Hernest ja kaera on võimalik kasvatada erinevates geograafilistes piirkondades, mis tõstab veelgi nende väärtust toorainetena.

Sensoorne analüüs on tootearenduse, sealhulgas taimsete alternatiivtoodete arenduse, puhul üks olulisimaid analüütilisi meetodeid. Sensoorse analüüsi paneeli assessoreid valides on oluline olla teadlik assessorite võimekusest hinnata erinevaid aistinguid. Erinevalt teistest põhimaitsetest, on kibeduse tajumises täheldatud enam varieeruvust. Kibedaid ühendeid võib olla enam kui 10 000

ning ühendid on oma struktuurilt väga erinevad. Inimestel on teadaolevalt 25 retseptorit, mis võimaldavad kibeda aistingut tajuda. Kibeduse sensoorsel analüüsil on tihti kasutusel klassikalised standardmolekulid, nagu näiteks kofeiin ja kiniin ning kibeduse tundlikkuse kirjeldamiseks kasutatakse ka PROP/PTC testi (Aliani & Eskin, 2017). ISO standardile (ISO, 2011) vastavas maitsetestis kibeduse tundlikkuse mõõdikuna kasutatav kofeiin ei pruugi aga kirjeldada assessori tundlikkust teiste kibedate ühendite suhtes. Kuna on täheldatud tundlikkuse varieeruvust erinevate ühendite suhtes, siis tõstatub küsimus, kas klassikaliste standardühendite kasutamine taimsete valkude sensoorse kibeduse kirjeldamisel, mis ei sisalda mainitud standardmolekule, on otstarbekas. Taimsete valkude kibeduse võtmes on oluline mõista assessorite võimekust kirjeldada kibedust erinevates taimsetes maatriksites selleks, et panna kokku spetsiifiliste toodete sensoorse kibeduse kirjeldamiseks sobiv paneel.

Taimsetest toorainetest alternatiivtoodete arendamisel on oluliseks infoks, kuidas tajuvad tarbijad kibedust antud toodetes, kuna see mõjutab toodete meeldivust ja sellest tulenevalt ka ostuotsuseid. Kuna alternatiivtoodete sihtgrupiks on nii taimtoidulised kui ka segatoidulised, siis sooviti käesoleva töö raames uurida, kas kahe toitumisgrupi vahel on kibeduse tajumises erisusi. Varasemalt on leitud seoseid kibeduse tundlikkuse ja toitumisharjumuste vahel (Cliceri et al., 2018; Jalil Mozhdehi et al., 2021).

Magistritöö eesmärk oli määrata kaera- ja hernetoodetes leiduvate kibedate võtmeühendite sisaldus ning uurida, milliste ühenditega on kaera- ja hernetoodete kibeduse tajumine seotud. Teiseks eesmärgiks oli uurida kaera- ja hernetoodetes oleva kibeduse tajumist treenitud assessorite seas ning võrrelda seda sensoorsel analüüsil klassikaliselt kasutatavate standardmolekulide kibeduse tajumisega. Kolmandaks eesmärgiks oli uurida, kuidas tajuvad tarbijad kibedust kaeras ja hernes ning võrrelda sega- ja taimtoiduliste tundlikkust kibedusele antud toormaterjalides. Uurimistöö praktiline osa baseerub 2022. aastal publitseeritud artiklil „*Individual differences in sensitivity to bitterness focusing on oat and pea preparations*“ (Vaikma et al., 2022), mille kaasautoriks on käesoleva lõputöö autor. Töö meetodite ja tulemuste avaldamine on kooskõlastatud publikatsiooni avaldanud väljaandega.

1. Kirjanduse ülevaade

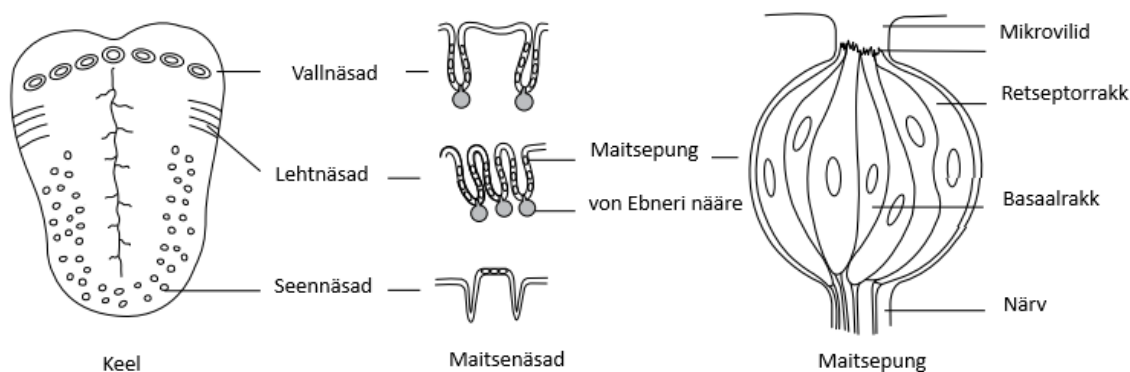
1.1 Toidu sensoorne tajumine

1.1.1 Sensoorseid aistinguid söömisel

Toidu sensoorne tajumine on kombinatsioon nägemise, kuulmise, lõhna, maitse, teksturi ja trigeminaalsest aistingust. Lõhnaaisting tekib toidus olevate lenduvate ühendite seondumisel ninasõõrmetes paiknevatele olfaktorsetele retseptoritele. Maitseaistingut tekitab mitte-lenduvate maitseühendite seondumine suuõõnes, peamiselt keelel olevatele maitseretseptoritele. Trigeminaalsete aistingute all peetakse silmas erinevaid ärritavaid aistinguid, nagu näiteks kootavus ja kapsaitsiinist tulenev põletustunne, mida tajutakse kolmiknärvi vabade lõpmetega. Fleiv on kemosensoorne aisting, mis tekib kombineerituna lõhnast, maitsest ja trigeminaalsetest aistingutest (Neyraud, 2014). On teada, et somatosensoorse süsteemi aistingud avaldavad samuti mõju maitse tajumisele. Somatosensoorne süsteem annab inimesele teavet teksturi- ja termoaistingute, propriotseptiivsete (keha asend ja liikumine) ja notsitseptiivsete (valu) aistingute näol, mille tajumiseks on inimesel mehhaano-, termo- ja notsireseptorid (Heinze et al., 2015; Thomas et al., 2017).

1.1.2 Maitsemiselundi ehitus ja retseptorrakkude tüübid

Inimese maitsemiselundiks on keel (joonis 1). Keelel esineb kolme erinevat tüüpi maitsevälk: keele eesmisel osal paiknevad seennäsad (*fungiform papillae*), keele külgedel paiknevad lehtnäsad (*foliate papillae*) ja keele tagumises osas paiknevad vallnäsad (*circumvallate papillae*) (Aliani & Eskin, 2017; Liman et al., 2014; Neyraud, 2014). Maitsevälkades paiknevad maitsepungad ning igas maitsepungas on 50-100 maitserakku (Aliani & Eskin, 2017). Leht- ja vallnäsades asuvad lisaks maitsepungadele ka von Ebneri süljenäärmed. Mainitud näärmete ülesandeks on maitseretseptorite niisutamine, mis soodustab maitseühendi ja maitseretseptori vahelise kontakti teket (Neyraud, 2014). Igal maitsepungal on poorne piirkond, mis on suunatud suuõõne poole ja milles on retseptorrakkude mikrovilid, mille pinnal toimub kontakt maitseühendi ja retseptori vahel (Aliani & Eskin, 2017).



Joonis 1. Maitsemiselundi ehitus (autori tõlgitud, pärineb Neyraud (2014) publikatsioonist)

Inimesed tajuvad viit põhimaitse aistingut: magus, hapu, soolane, kibe ja umami. Lisaks viiele põhimaitsele on teisi aistinguid, mille puhul arvatakse, et nende tajumine võib toimuda samuti maitseretseptorite vahendusel, nagu näiteks rasva maitse, kokumi maitse, kaltsiumi maitse ning CO₂ ja vee sensoorne tajumine (Laffitte et al., 2016; Liman et al., 2014). Teadaolevalt on hapu ja soolase aistingu tajumise mehhanismid teistsugused kui umami, magusa ja kibedaomad. Arvatakse, et hapu ja soolase maitse tajumine võib toimuda kationikanalite vahendusel (Aliani & Eskin, 2017).

Umami, kibe ja magusa aistingu teke toimub G-valguga seotud retseptorite (GPCR) vahendusel. GPCR-id on membraanvalgud, millel on sarnane struktuur ja signaali ülekandemehhanism (Aliani & Eskin, 2017; Delompré et al., 2019). Võrreldes kibedate ühenditega, on magusa ja umami maitsega ühendeid võrdlemisi vähe. Magusa aisting annab organismile teavet suhkrurikkast toidust ning magusad üendid on peamiselt erinevad lihtsuhkrud, aga ka magusained (suhkuralkoholid ja kunstlikud magusained), mis ei oma kõrget toiteväärtust. Umami aisting annab organismile teavet valgurikkast toidust (näiteks liha ja kala). Umami aistingu peamiseks tekitajaks on naatriumglutamaat, mille intensiivsust võimendavad 5'-nukleotiidid. Umami aistingu tekitajana on kirjanduses mainitud ka L-aspartaati (Delompré et al., 2019). Magusa ja umami maitse retseptorid on ehituselt väga sarnased: mõlemad retseptorid on ehituselt heterodimeerid. Heterodimeeri üks osa on T1R3 subühik, mis on omane nii magusa kui ka umami retseptorile. Magusa retseptoritel on retseptori teiseks subühikuks T1R2, kuid umami retseptoritel T1R1 (Laffitte et al., 2016; X. Li et al., 2002; Liman et al., 2014).

1.2 Kibedus

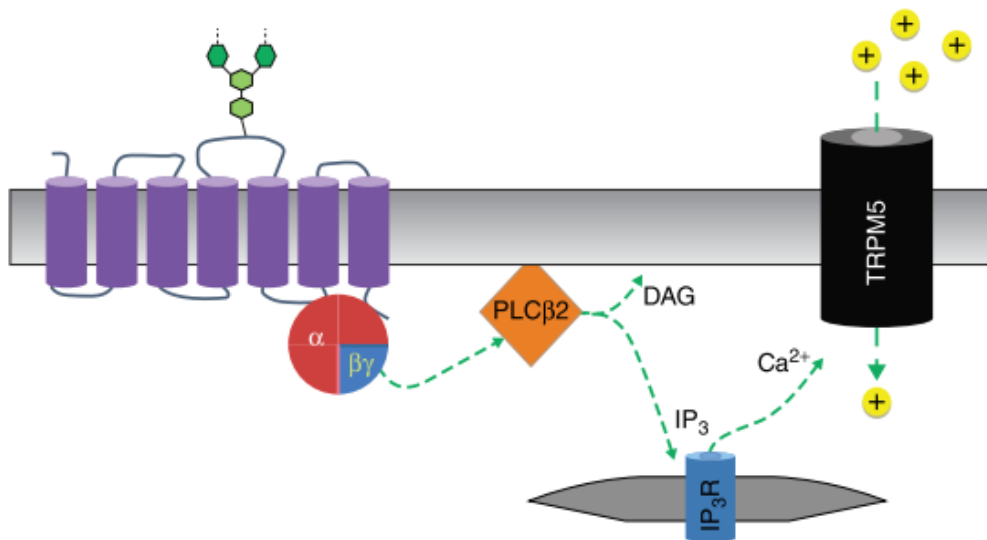
1.2.1 Kibeduse retseptorid

Käesoleva magistr töö fookuseks on kibeduse aisting. Kibedate ühendite maitse tajumine toimub TAS2R retseptorite vahendusel, mida on tänaseks teadaolevalt kakskümmend viis eri tüüpi (Meyerhof et al., 2010). Kibeduse retseptorite geenid paiknevad peamiselt kromosoomides 7 ja 12 (Lipchok et al., 2013). Kibeduse puhul on märkimisväärne erinevate retseptorite tüüpide hulk. See on selgitatav sellega, et kibedaid ühendeid esineb looduses väga palju ning kibeda üendid on oma struktuurilt väga erinevad. Kuna TAS2R-ide omavaheline aminohappeline järjestus varieerub palju (25-90%), siis võimaldab see keemiliselt väga erinevatel ühenditel retseptoritega seonduda (Aliani & Eskin, 2017). On leitud, et mõned retseptorid on võimelised siduma palju erinevaid kibeda ühendeid (TAS2R14 – 33 ühendit), samas kui mõni retseptor seob teadaolevalt ainult üht ühendit (TAS2R3) (Meyerhof et al., 2010). Samamoodi on ka kibedate ühenditega: on ühendeid, mis seonduvad erinevatele retseptoritele (difenidool – viisteist retseptorit; kiniin üheksa retseptorit; kofeiin - viis retseptorit), kuid väga paljud üendid seonduvad teadaolevalt vaid ühele retseptorile (Laffitte et al., 2016; Meyerhof et al., 2010). TAS2R geenide arv korreleerub suures osas sellega, kui paljude potentsiaalselt kahjulike ühenditega võib organism looduses kokku puutuda: reeglina on karnivooridel vähem TAS2R geene, kuna loomsetes kudedes ei ole niivõrd palju kibedaid ühendeid. Omnivooridel ja herbivooridel on TAS2R geenide arv üldiselt suurem, kuna nende toidulaua leidub kas enam taimset toitu või valdavas osas taimset päritolu toit (Aliani & Eskin, 2017; D. Li & Zhang, 2014). Kuigi peamiselt paiknevad kibeduse retseptorid keelele, siis on leitud, et lisaks keelele võivad retseptorirakud paikneda organismis mujal, nagu näiteks kõripealsel, neelus ja kõris, ajus, südames

ja reproduktiivsüsteemis (Aliani & Eskin, 2017). Kibeda maitseretseptoreid on imetajatel leitud veel kõhus ja hingamisteedes ning arvatakse, et nende roll on seotud toitainete ja toksiinide tuvastamisega ning sellega seotud kaitsereaktsioonide tekkega (Liman et al., 2014).

1.2.2 Kibeduse aistingu tekkemehhanism

Joonisel 2 on illustreeritud kibeda ühendi seondumine retseptorirakule ning signaali ülekande mehhanism (transduktsioon). Kibeda maitseühendi seondumisel retseptoriraku ekstratsellulaarsele pinnale muutub retseptori konformatsioon, mille tagajärjel dissotseerub retseptoriraku intratsellulaarsel pinnal olev heterotrimeerne G-valgu kompleks, mis koosneb α -, β - ja γ -subühikust (Joonis 2). β - ja γ -subühikud aktiveerivad ensüümi fosfolipaas C β 2 (PLC β 2), mis hüdrolyüsib inositol fosfolipiidi (PIP2), mille tulemusena saadakse produktid 1,4,5-trifosfaat (IP3) ja diatsüülgütserool (DAG). IP3 aktiveerib endoplasmaatilisel retiikulil paiknevad IP3 retseptorid, mille tagajärjel avanevad Ca²⁺-kanalid ning toimub kaltsiumioonide vabanemine raku. Kaltsiumi taseme tõustes avanevad monovalentsed selektiivsed TRPM5 kanalid, läbi mille toimub Na⁺-ioonide liikumine raku. Toimub rakumembraani depolarisatsioon, vabaneb neurotransmitter adenosiin trifosfaat (ATP) ning signaal kandub närvijätketele (Aliani & Eskin, 2017).



Joonis 2. Kibeda maitseühendi (joonisel kujutatud rohelse värviga) seondumine retseptorile (joonisel kujutatud lilla värviga) ning sellele järgnev signaali transduktsioon (Aliani & Eskin, 2017)

Maitserakke innerveerivad ühe närvijätkega neuronid (unipolaarsed neuronid). *Chorda tympani* närv (osa näonärvist) ja suur petrosaalnärv innerveerivad keele eesmist osa, mis sisaldab seennäsasid; keele-neelunärv innerveerib keele tagumist osa ja suulage (Aliani & Eskin, 2017; Liman et al., 2014) Leht- ja vallnäsasid innerveerib keele-neelunärv. Erinevatest rakkudest liiguvad maitse signaalid esmalt ajutüvesse *nucleus tractus solitariusesse* (NTS). NTS-is toimub saadava maitseteave mõjul põhiliste kontrollile allumatute reflekside (somaatilised refleksid) teke, nagu süljeeritus, neelamine ja okserefleks. NTS-ist liigub signaal maitsetaalamusse ning sealt edasi maitsekorteksisse (Aliani & Eskin, 2017). On spekulatsioonid, et kuna kibedaid ühendeid on väga palju ja väga mitmekesiste struktuuridega, siis ei pruugi kõikide kibedate ühendite tajumine toimuda läbi G-valguga seotud retseptorite (Andres-Barquin & Conte, 2004; Rodgers et al., 2005).

1.2.3 Kibedate ühendite mitmekesisus

Kibeda maitsega ühendeid on arvatavalt rohkem kui 10 000 (Aliani & Eskin, 2017) ning kibedad ühendid on valdavalt taimset päritolu. Kibedaid ühendeid sisaldub erinevates jookides, mis on valmistatud taimedest, nagu näiteks kohv ja roheline tee. Kibedad ühendid võivad tekkivad fermenteerimisel, õlles, veinis ja juustus. Fermentatsiooni käigus toimuva valkude proteolüüsi tulemusel tekivad peptiidid ja aminohapped, millest osad omavad kibedat maitset, ning rasvade lipolüüsil vabanevad rasvhapped ja monoglütseriidid, millest osad on kibeda maitsega (Günther-Jordanland et al., 2020). Samuti võivad lipiidsete ühendite oksüdatsiooni käigus tekkivad produktid olla kibedad. Kibedus võib toidus tekkida ka Maillardi reaktsiooni tulemusena (Laffitte et al., 2016).

Laffitte et al., (2016) on kibedaid ühendeid klassifitseerinud järgmiselt:

- Soolad
- Magusained
- Aminohapped
- Lipiidid
- Muud ühendid

Kibedatest sooladest võib näiteks tuua kaltsium- ja magneesiumkloriidi. Magusainetest omavad kibedat maitset sahhariin ja atsesulfaam K. Lisaks eelmainitule on väga palju ühendeid muudest aineklassidest, nagu näiteks laktoonid, püranosiidid, glükosiidid, alkaloidid, flavonoolid, flavonoidid, terpeenid, estrid, amiidid, laktaamid jpm (Laffitte et al., 2016). Kibeduse sensorsete standarditena tuntud kofeiin ja kiniin on alkaloidid (Wink, 2016). Mitmed aminohapped ja peptiidid on kibeda maitsega. L-aminohapete puhul on leitud seos kibeduse ja aminohappe külghela hüdrofoobsuse vahel: hüdrofoobse külghelaga L-aminohapped leutsiin, isoleutsiin, valiin, arginiin, metioniin, fenüülalaniin, türosiin, trüptofaan ja histidiin on kibeda maitsega (Delompré et al., 2019).

Rasvhapete seast on kibedust mainitud näiteks steariinhappes, oleiinhappes, alfa-linoleenhappes ja linoolhappes (Delompré et al., 2019). On teada, et maitseretseptoritele seonduvad rasvhapped vabas vormis (Neyraud et al., 2017), seega on kibeduse tajumise seisukohast olulised vabad rasvhapped. Toidus esinevad rasvhapped tavaliselt esterdatud vormis, eeskätt triatsüülgütseriididena, kuid lipolüütiliste ensüümide toimel võib aset leida triglütseriidide ensümaatilise hüdroolüüsi, mille lõpp-produktideks on vabad rasvhapped. Hapniku juuresolekul võib aset leida rasvapeete oksüdatsioon ning oksüdatsiooniproduktid võivad samuti omada kibedat maitset (Gläser et al., 2020, 2021; Mozuraityte et al., 2016). Kirjanduses on kibedate lipiidsete ühenditena mainitud ka mõningaid monoglütseriide, mis võivad tekkida samuti lipolüütiliste protsesside tulemusena (Günther-Jordanland et al., 2020). Hiljutiste uuringute kohaselt toimub rasvhapete maitse tajumine retseptorite GPCR 120 ja CD 36 vahendusel (Neyraud et al., 2017). On leitud, et inimese seennäsades olevates HTC-8 maitserakkudes ekspresseeritakse samaaegselt kibeda retseptoreid TAS2R16 ja TAS2R38 ning rasva maitse tajumisega seotud retseptoreid CD36 ja GPR120, mis näitab, et kibeda ja rasva maitse tajumine on omavahel lähedalt seotud (Brissard, 2018).

1.2.4 Kibeduse tajumise varieeruvus

Inimeste individuaalne kibeduse tundlikkus võib olla väga varieeruv ja kibeduse tundlikkust mõjutavad mitmed tegurid, mida saab laias laastus jaotada geneetilisteks ja keskkonnast tulenevateks teguriteks. TAS2R geenid on väga polümorfseid ning on leitud, et inimestel esineb palju TAS2R pseudogeene, mille pealt ei ole võimalik valku toota (National Human Genome Research Institute, 2023). TAS2R geenide puhul esineb teadaolevalt enam kui kaheksakümmend erinevat üksiku nukleotiidi polümorfismi (Aliani & Eskin, 2017). Polümorfism on kahe või enama spetsiifilise DNA järjestuse (alleeli) esinemine mis võib esineda erinevate indiviidide või populatsioonide seas (Gunter, 2023). Erinevad uuringud on näidanud, et üksiku nukleotiidi polümorfismid geenides, mis kodeerivad kibeda retseptoreid, annavad erinevusi kibeda aistingu tajus, mis tähendab, et mõni inimene võib tunda aistingut tugevalt, samas kui mõni inimene ei pruugi aistingut üldse tajuda (Lipchick et al., 2013).

Polümorfismi on laialdaselt uuritud TAS2R38 geenis. TAS2R38 retseptorile seonduvad ühendid, mis sisaldavad tiotsüanaat funktsionaalrühma. Molekulide 6-N-propüülthiouratsiil (PROP) ja fenüülthiokarbamiid (PTC) tundlikkus on seotud TAS2R38 geeniga ja selle poolt kodeeritud retseptoriga. Mõlema mainitud ühendi peamine kasutusala on geneetilised uuringud, kuid PROP-i kasutatakse veel hüpertüroidismi raviks (National Library of Medicine, 2022) ning PTC-d kahjuriõrjeks (National Center for Biotechnology Information). TAS2R38 retseptorivalgu erinevus tuleneb aminohappe positsioonides 49, 262 ja 296, kus on järjestus proliin,alaniin ja valiin (PAV) võialaniin, valiin ja isoleutsiin (AVI), millest tulenevalt osad inimesed tajuvad PROP/PTC maitset ja osad ei taju (Roura et al., 2015; Shen et al., 2016). Esineb ka teisi TAS2R38 järjestusi, mis on aga populatsiooni seas väga haruldased (Boxer & Garneau, 2015). PROP ja PTC molekulid on tajutavad 70-75% populatsiooni seas, kes tunnevad mainitud ühendeid kas keskmiselt kibedana või ülimalt kibedana, ning 25-30% ei tunne nende ühendite maitset (Laffitte et al., 2016; Wieczorek et al., 2018). Lisaks TAS2R38-le on leitud polümorfisme teistes geenides. On näidatud, et TAS2R19 geeni puhul esinev polümorfism seonduv kiniini ja greibi kibeduse tajumise erisustega. TAS2R31 geeni polümorfism on seotud magusainete sahhariini ja atsesulfaam-K kibeduse tajumise erisustega populatsiooni seas. Lisaks kibedust kodeerivatele geenidele on täheldatud polümorfismi esinemist teistes geenides, näiteks magusa ja umami puhul (Hayes et al., 2013). Samuti on leitud, et rasva retseptoreid kodeerivates geenides CD36 ja GPR120 olevad polümorfismid võivad mõjutada rasva maitse tundlikkust (Heinze et al., 2015).

PROP ja PTC molekulide tundlikkust on kasutatud indikaatorina üldisele kibeduse tundlikkusele. Samuti on mainitud ühendite tajumise tundlikkust seostatud üldise maitsetundlikkuse ning muude aistingute tajumisega (näiteks trigeminaalsed aistingud). On leitud, et sinigriini, mis seob TAS2R38 retseptorit, ning sinigriini sisaldavate köögiviljade kibedus korreleerub PROP ja PTC tundlikkusega (Dinehart et al., 2006; Duffy et al., 2020; Roura et al., 2015). Varajasemad uuringud on seostanud PROP tundlikkust kofeiini ja sahhariini kibeduse tajumisega (Bartoshuk, 1979; Hall et al., 1975), kuid hiljutisemad uuringud on selle ümber lükanud (Roura et al., 2015). Nolden et al., (2020) uuringus leiti, et PROP-i kibeduse tundlikkus seostub sahharoosi, kiniini ja kapsaitsiini tundlikkusega. Samuti on uuritud seoseid seennäsade tiheduse, TAS2R38 geeni ja maitsetundlikkuse vahel ning on leitud, et seennäsades paiknevate retseptorite tihedus korreleerub tajutud PROP-i kibedusega (Bartoshuk et al., 1994; Shen et al., 2016). Samas on publitseeritud mitmeid töid, kus on leitud, et PROP tundlikkus ei ole seotud kibeduse tundlikkusega teistele ühenditele. Roura et al., (2015) näitasid, et

ühendite kibeduse tajumine korreleerub nende ühendite puhul, mis seonduvad ühistele retseptoritele. Tundlikkust PROP kibedusele on seostatud magusa, kibeda ja rasvase toidu eelistuste osas, kuid Drewnowski et al., (2007) uuringust, kus uuriti 171 erineva toiduaine eelistust tarbijate seas leiti, et PROP tundlikkuse ning magusa ja rasvase toidu eelistuse vahel ei tekkinud seoseid. Hayes et al., (2008) leidsid oma töös, et PROP kibeduse tundlikkus on seotud küll teiste põhimaitseaistingute tajumisega, kuid TAS2R38 geeni polümorfismid ei selgita erinevat PROP tundlikkust.

On leitud, et retseptorgeenide ekspresioonitase mõjutab kibeduse tajumist. Lipchock et al., (2013) uurisid TAS2R38 geeni mRNA ekspresioonitaset seennäsades ja PROP tundlikkust. Leiti, et mRNA ekspresiooni tase oli osalejate seas väga varieeruv, kuid korreleerus positiivselt tajutud PROP kibeduse intensiivsusega ja brokkolimahla (sisaldab sinigriini) kibeduse intensiivsusega. Lipchock et al., (2017) leidsid hilisemas uuringus kofeiini näitel, et TAS2R retseptorite, millele seonduv kofeiin, ekspresioon maitseaines mängib rolli individuaalsetes erinevustes kofeiini kibeduse tajumisel.

Sülje koostis mängib rolli maitsetaju tundlikkuses. Gustin on süljes leiduv troofiline faktor, mis soodustab maitsepungade kasvu ja arengut (Melis et al., 2013). On näidatud, et gustini genotüübi variatsioon on seotud PROP kibeduse tajumisega (Hayes et al., 2013). Samas leidub kirjanduses ka vastupidiseid näiteid, kus mainitud seost ei ole leitud (Shen et al., 2016), mistõttu on andmed gustini rolli osas kibeduse tajumisel vastuolulised. Dsamou et al., (2012) uurisid süljes sisalduvaid valke ning leiti, et inimeste, kes olid tundlikumad kofeiini kibedusele, sülg sisaldas enam amülaasi, immunoglobuliini ja seerumi albumiini, sisaldades samal ajal vähem proteaasi inhibiitorit. Samuti on leitud, et süljes oleva lipaasi kontsentratsioon võib põhjustada erinevat rasva sensorset tajumist. Voigt et al., (2014) uuringus leiti, et osalejad, kellel oli kõrgem lipaasi kontsentratsioon, olid rohkem tundlikud vabade rasvhapete maitse suhtes, kuna nende suus toimus triglütseriidide hüdrolüüs laialdasemalt ning see võimaldas rasvhapetel retseptoritega rohkem interakteeruda. Teisalt on leitud, et kõrge süljes olev lipolüütiline aktiivsus, mis tekitab palju vabu rasvhappeid, võib põhjustada hoopis kõrgemat tundlikkuse läve vabade rasvhapete suhtes, kuna maitseretseptorid adapteeruvad suus oleva kõrgema rasvhapete kogusega (Neyraud et al., 2017).

Mitmed uuringud on demonstreerinud kibeduse tundlikkuse tajumises sugudevahelist erinevust, mis võib tuleneda hormoonidest ning nende mõjust erinevatele sülje komponentide osakaalule (Shizukuda et al., 2018). On leitud, et naised on tihedamini PROP supermaitssjad ning naistel on enam seennäsasid ja maitsepungi (Bartoshuk et al., 1994). Michon et al., (2009) uuringus leiti, et naised tajuvad kiniini üldiselt kibedamana kui mehed. Samas Roura et al., (2015) uuringus, kus uuriti erinevate kibedate komponentide tundlikkust, ei leitud meeste ja naiste vahelises kibeduse tundlikkuses erinevust. Lisaks soole on leitud erinevusi etniliste gruppide vahelises kibeduse tundlikkuses. On näidatud, et Aasia ja Aafrika populatsioon on rohkem tundlikud PROP/PTC kibedusele kui Kaukaasia populatsioon (Drewnowski, 2001). Choi & Chan (2015) uurisid Ameerika Ühendriikides PTC tundlikkust afroameeriklaste, valgete, hispaanlaste ja aasialaste seas. Kui keskmiselt on USA-s 20-25% populatsioonist PTC suhtes madala tundlikkusega ehk mittemaitssjad, siis etniliste gruppide vaates oli mittemaitssjate osakaal afroameeriklaste seas 32%, valgete seas 35%, hispaanlaste seas 30% ja aasialaste seas 18,5%.

Maitsetundlikkus langeb vananedes. Correa et al., (2013) uuringust tuli välja, et lastel vanuses kuni kaheksa eluaastat oli kõrgem seennäsade arv võrreldes täiskasvanutega. Üheks maitse tundlikkuse

väheneb põhjuseks on muutused sülje koostises: on täheldatud, et vananedes suureneb süljes oleva naatriumi kontsentratsioon. Ravimite kasutamine mõjutab maitse tundlikkust (Heinze et al., 2015). Lisaks vanusele mängivad kibeduse tajumisel rolli toitumisharjumused. On täheldatud, et maitsetundlikkus sõltub kellaajast, samuti toitumisest enne testimist (Keast & Breslin, 2003). On leitud erinevusi kibeduse tajumisel erinevate toitumisharjumustega inimeste seas. Ciceri et al., (2018) uuringus leiti, et PROP tundlikkus oli madalam vegetaarlaste seas võrreldes fleksitaarlaste ja omnivooridega ning Jalil Mozhdehi et al., (2021) uurimuses leiti, et vegetaarlastel oli madalam tundlikkuse lävi kofeiini kibeduse suhtes kui omnivooridel ja veganitel. Kokkuvõtvalt saab öelda, et andmed kibeduse tundlikkusest ja selle seostest teiste aistingute tajumisega on vastuolulised. Tegureid, millest maitsetundlikkus sõltub on väga palju ning ilmselt ei ole kõik mõjurid ka teada.

1.3 Taimsed valgud ja alternatiivtooted

Taimsed alternatiivtooted on tooted, mis jäljendavad loomset päritolu tooteid, nagu näiteks lihatoodete alternatiivid ja piimatoodete alternatiivid. Mainitud toodete eesmärk on pakkuda tarbijale keskkonnasõbralikumad, eetilisemat ja tervislikumat alternatiivi loomsetele toodetele (Bryant, 2022; FAO, 2022). Selliseid tooteid arendades soovitakse saavutada eeskätt loomsete toodetega sarnaseid sensoorseid omadusi, kuid tihti soovitakse toodetele anda sarnaseid toitainelisi väärtusi, nagu näiteks liha alternatiivtoodete puhul kõrgendatud valgusisaldus. Taimsete valguallikate valik on väga lai: näiteks võib tuua kaunviljad, pähklid, seemned, teraviljad ja juurviljad. Lisaks taimedele on võimalik alternatiivtooteid valmistada ka seentest, vetikatest ja putukatest (Kurek et al., 2022; Sha & Xiong, 2020). Samuti on arendamisel erinevad liha kultiveerimise tehnoloogiad, mille tulemusena kasvatatakse laboris loomne lihaskude rakkudest.

1.3.1 Hernes taimse valguallikana

Hernes (*Pisum sativum*) on hea valgu- (21-33% kuivainest), tärklise- (37-49% kuivainest) ja kiudaineallikas (14-26% kuivainest), sisaldades samal ajal vähe rasva (1-2% kuivainest) (Dahl et al., 2012). Levinumad hernesordid on kollane ja roheline hernes. Hernevalk on üsna levinud alternatiivtoodete koostises oma toitainelise koostise tõttu, kuna sisaldab palju valku ning kõiki asendamatuid aminohappeid. Samas on hernevalgu puhul limiteerivateks aminohapeteks trüptofaan, metioniin ja tsüsteiin (Heng, 2005). Inimese aminohapete vajadusega võrreldes on hernevalk rikas lüsiinisalduse poolest. Hernestes sisaldub märkimisväärselt erinevaid mineraalaineid ja vitamiine, millest olulisemadena on kirjanduses välja toodud kaalium, fosfor ja magneesium (Dahl et al., 2012).

Herneste puhul on täheldatud mitmeid positiivseid tervisemõjusid. Hernestes sisalduvad kiudained vähendavad vere kolesteroolitaset sapphapete reabsorptsiooni vähendamise teel. Hersed sisaldavad märkimisväärselt raffinoosi ja teisi galaktoosi sisaldavaid oligosahhariide, mis omavad jämesooles prebiootilist efekti. Hernestes leidub erinevaid fütokemikaale, nagu näiteks fenoolsed ühendid, fütaadid, saponiinid ja oksalaadid. Fenoolsed ühendid on tuntud antioksüdantsete omaduste poolest. Hernestes olevatest fenoolsetest ühenditest on olulisemad tanniinid, fenoolhapped ja flavonoidid. Hernevalgu seeditavust vähendavad proteaasi inhibiitorid, siiski on leitud, et hernevalgu seeditavus on parem teistest kaunviljadest (Dahl et al., 2012). Fütiinhape võib takistada teatud mineraalainete imendumist, nagu näiteks tsink (Schoenlechner et al., 2008) ning

oksalaatide puhul on leitud, et nende liigne tarbimine soodustab neerukivide teket (Mitchell et al., 2019).

Hernestes leidub saponiine, mille puhul on täheldatud hüpokolesterolaemilist ja antikantsirogeenset toimet (Dahl et al., 2012). Saponiine on varasemalt peetud ebasoovitavaks mürgisuse ja hemolüütilise aktiivsuse tõttu, siiski on leitud, et kaunviljades levinud sojasaponiinid, A, B ja E ei ole mürgised (Rochfort & Panozzo, 2007). Kuna saponiinid võivad moodustada komplekse tsingi ja rauaga, siis võib see vähendada nende ühendite imendumist seedetraktis (Schoenlechner et al., 2008). On teada, et kontsentreeritud hernevalgutooted sisaldavad palju saponiine, kuna saponiinid seonduvad valkudega (Heng et al., 2006).

Hernes on leitud mitmeid eri tüüpi kibedaid ühendeid, millest peamised on eelpool mainitud saponiinid, samuti lipiidid ühendid. Saponiinid on triterpeen glükosiidid ning on omadustelt amfiifilised ja mittelenduvad. Saponiinid koosnevad mittepolaarsetest aglükoonidest, mis on seotud ühe või mitme suhkruahelaga. Hernes leidub peamiselt kaht tüüpi saponiine: saponin B ja DDMP saponiin. Mainitud saponiinid on ehituselt sarnased, kuid DDMP saponiini molekul sisaldab täiendavalt DDMP-rühma, mis eraldub molekulist kuumtöötamise mõjul (Heng et al., 2006). Saponiinide kibedust on uuritud palju. Heng et al., (2006) uurisid kibedust saponiinide segus (DDMP ja saponiin B) ja saponiin B-s ning leidsid, et DDMP saponiin on märkimisväärselt kibedam kui saponiin B. Kokku uuriti 16 hernesortit ning leiti, et kahes hernesordis sisaldus vaid DDMP saponiin ning ülejäänud hernesortides leidis DDMP saponiini enam kui saponiin B-d. Järeldub, et kibeduse seisukohalt on DDMP-saponiin märgilisema tähtsusega kui saponiin B. Lisaks saponiinidele on oluliste herne kibedust põhjustavate ühenditena välja toodud lipiidid ühendid. Gläser et al., (2020) uurisid hernevalgu isolaadis sisalduvaid kibedaid ühendeid ning leiti, et lipiidid ja lipiidide oksüdatsiooniproduktid on kibedust andvateks võtmeühenditeks hernevalgu isolaatides. Hilisemas uuringus määrasid samad autorid (Gläser et al., 2021) hernevalgu isolaatides sisalduvaid lipiide kvantitatiivselt. Leiti, et kõige suurema sensoorse mõjuga kibedusele olid rasvhapped alfa-linoleenhape ja linoolhape, samuti oksüdeerumisel tekkivad trihüdrosüoktadeteenapped.

1.3.2 Kaer taimse valguallikana

Teraviljade seas on taimsete alternatiivtoodete arenduses väga perspektiivikaks tooraineks kaer (*Avena sativa*). Kaer sisaldab ca 11% valku, 5% rasva, 48% tärklisi ja 18% kiudaineid (Sterna et al., 2016). Kaer sisaldab palju lahustuvat kiudainet, vitamiin E-d, polüküllastumata rasvhappeid ja beta-glükaani (Sadiq Butt et al., 2008). Beta-glükaani puhul on leitud mitmeid tervisele positiivseid mõjusid: beta-glükaani tarbimine aitab vähendada riski insuliinresistentsuse, kõrge vererõhu, kolesterooli ainevahetuse häirete ja ülekaalulisuse tekkele (El Khoury et al., 2012). Kaer (ja teised teraviljad) on võrdlemisi madala lüsiinisisaldusega (Sterna et al., 2016). See-eest kaunviljad on lüsiinirikkad, kuid limiteeritud väävlit sisaldavate aminohapete osas, mida sisaldub teraviljades rohkem. Teravilju ja kaunvilju valguallikatena kombineerides on võimalik saada hea aminohappeline profiil (Bonke et al., 2020).

Kaeras leidub erinevaid kibedaid ühendeid, nagu näiteks lipiidid, saponiinid, avenantramiidid jne. Kaer on võrdlemisi kõrge rasvasisaldusega ning lipiidid ühendid on üheks oluliseks kaera kibeduse allikaks. Kaera puhul on räägitud kibeduse puhul ka fenoolsetest ühenditest. On väidetud, et ainult vabas vormis fenoolsed ühendid on maitse-aktiivsed (näiteks p-kumariinhape, kofeiinhape,

feruulhape), kuna saavad seonduda maitseretseptoritele (Heiniö et al., 2016). Kaeras on aga mainitud fenoolhapped tihti mitte vabas vormis, vaid avenantrammiidide koostises (Boz, 2015). Saponiinid on samuti üheks kibeduse allikaks kaeras. Kaer on teadaolevalt ainus teravili, mis sisaldab saponiine. Kaeras esineb kaht erinevat tüüpi saponiine: avenasiidid ja avenakosiidid. Avenasiidid on triterpenoidsaponiinid ning neid leidub peamiselt kaerataime juurtes, kus nende rolliks on erinevate patogeenide inhibitsioon. Avenakosiidid on steroidglükosiidid, mida leidub kaera lehtedes ja terades. Avenakosiidid A ja B on kaks peamist avenakosiidi kaeras ning nende rolliks on kaitse patogeensete seente vastu (Yang et al., 2016). Günther-Jordanland et al., (2016) uurisid kaerajahus sisalduvaid kibedaid fütotoitaineid ning algselt järelitati, et avenantrammiidid ja saponiinid on olulisemad ühendid, mis mängivad rolli kibeda ja kootava maitse tekkes kaeras. Väide lükati ümber samade autorite (Günther-Jordanland et al., 2020) poolt teostatud hilisemas uuringus, kus kvantifitseeriti lisaks avenantrammiididele ja saponiinidele lipiidseid ühendeid, aminohappeid ja mineraalaineid kaerajahus. Töö tulemusena leiti, et kibedusele avaldavad enam mõju lipiidseid ühendeid ja saponiinid ning kibeduse võtmeühenditena toodi välja neli monoglütseriidi, viis rasvhapet (sealhulgas alfa-linoleenhape ja linoolhape) ja neli saponiini (sealhulgas avenakosiidid A ja B).

1.4 Meetodid kibeduse määramiseks

1.4.1 Sensoorne analüüs

Sensoorse analüüsi meetodeid on erinevaid, kuid kõige levinum meetod on kvantitatiivne kirjeldav analüüs, kus sensoorsete parameetrite intensiivsusi kirjeldatakse skaalat kasutades. Kibeduse hindamisel kasutatakse erinevaid skaalasisid, millest levinumad on 10- ja 15-punktsed numbrilised skaalad. Kibeduse puhul, eeskätt PROP testi puhul on viimastel kümnenditel hakatud kasutama ka magnituud-skaalat (Aliani & Eskin, 2017). Kuna paljude kibedate ühendite aisting on ajas muutuv, siis üheks võimaluseks on hinnata maksimaalset tajutut aistingut, kuid samuti on võimalik hinnata aistingu intensiivsuse muutumist ajas. Selle jaoks sobib hästi ajalise intensiivsuse (*time Intensity*) meetod, kus aistingu intensiivsust hinnatakse alates hetkest mil proov suhu pannakse, kuni hetkeni mil aistingu intensiivsust enam tunda ei ole. Kibeduse sensoorsel hindamisel on võimalik kasutada ühe võimaliku meetodina järjestamise testi (*ranking test*), kus proovid järjestatakse kibeduse intensiivsuse alusel. Kui eesmärgiks tuvastada, kas proovid on erinevad, siis võib kasutada diskrimineerivaid teste (näiteks kolmnurkkatse). Kibeduse individuaalse tundlikkuse kirjeldamiseks on levinud meetodiks maitaseläve test, kus ühest ühendist valmistatakse lahjenduste rida. Assessor alustab proovide maitsemist madalaimast kontsentratsioonist ning assessori maitselävi paikneb selle kontsentratsiooni juures, mille juures ta ühendi maitse ära tunneb (ühendi äratundmislävi). Maitseläve testide negatiivne külg on aja- ja ressurssikulukus (Aliani & Eskin, 2017). Mitmetes publikatsioonides on kasutatud kibeduse tundlikkuse kirjeldamisel hoops kontsentratsioone, mis on kõrgemal maitsetundlikkuse lävekonsentratsioonidest (Roura et al., 2015; Solms, 1969).

Standardite kasutamine sensoorsel analüüsil võimaldab ühtlustada assessorite skaalakasutust. Kuna kibedaid ühendeid on väga erinevaid, siis on standardite kasutamine sensoorsel analüüsil üheks kitsaskohaks. Klassikalised standardid, mida sensoorsel analüüsil tihti kasutatakse on kofeiin, kiniin, mainitud on ka L-trüptofaani. Teede sensoorsel hindamisel on kibeduse standardina kasutatud katehiini (Aliani & Eskin, 2017). Mainitud ühendid ei ole aga iseloomulikud kibedust

andvad võtmeühendid herne- ja kaeratoodete koostises (Aliani & Eskin, 2017). Ka Aliani & Eskin, (2017) on maininud, et kibeduse hindamisel standardit valides tuleks silmas pidada, et standard sobituks hinnatavate proovidega, näiteks veinide sensoorsel hindamisel sobiks kibeduse standardiks paremini katehiin kui kofeiin. Kolmest mainitud standardist võiks kaera ja herne kibeduse kibeduse hindamisel kõige potentsiaalikum olla L-trüptofaan, kuna seda leidub nii kaeras kui ka hernes (Hahn et al., 1990; Landry & Delhay, 1997). Samas esinevad aminohapped eeskätt valkude koostises kui vabas vormis ning trüptofaani ei ole kirjanduses mainitud kui olulist kibeduse mõjutajat antud toorainetes.

Sensoorne analüüs võimaldab saada väga palju infot, kuid sellel on ka teatavad kitsaskohad. On leitud, et ka treenitud assessorite paneelide puhul esineb skaala kasutusel variatsiooni, kuigi see on tavaliselt väiksem kui tarbijate puhul (Kobue-Lekalake et al., 2012; Romano et al., 2008). Limiteerivaks teguriks kibeduse sensoorsel analüüsil on analüüsitava proovide arv: kibeduse sensoorsel hindamisel on oluline hoida hinnatavate proovide hulk madal, kuna kibedus akumulereub, mida enam proove maitsta (Mura et al., 2018), mistõttu tekib sensoorne väsimus kiiresti.

1.4.2 Instrumentaalne analüüs

Instrumentaalse analüüsi muudab kibedate ühendite puhul keerukaks asjaolu, et kibedad üendid on väga mitmekesiste keemiliste struktuuridega. Instrumentaalsete meetodite abil on võimalik küll täpselt määrata erinevate ühendite sisaldusi, kuid ilma sensoorse analüüsita ei teki terviklikku pilti ühendite mõjust tootele. Kibedate võtmeühendite määramiseks on viimasel ajal tulnud pilti sensoomika teadusharu, mis hõlmab endas sensoorse analüüsi ja instrumentaalsete meetodite kombineerimist. Sensoomika eesmärk on kirjeldada toidu sensoorseid omadusi molekulaarsel tasandil ning leida, mis üendid põhjustavad toidule omase lõhna ja/või maitse tajumist (Fricke & Schieberle, 2020; Vrzal & Olšovská, 2019).

Hernevalgu isolaadis on varasemalt kaardistatud kibedust põhjustavaid võtmekomponente kasutades sensoomset lähenemist. (Gläser et al., 2020) töös teostati hernevalgu isolaadi korduvekstraktsioone, kasutades erinevate polaarsustega solvente ning solventide segusid. Saadud ekstraktid puhastati solventidest ja treenitud sensoorse analüüsi paneel hindas ekstraktide kibedust. Kõige kibedam ekstrakt lahutati kesksurve vedelikukromatograafia (MPLC) meetodil subfraktsioonideks, saadud fraktsioonid puhastati solventidest ning teostati järjekordne kibeduse sensoorne analüüs. Kõige kibedam fraktsioon lahutati omakorda preparatiivse kõrgsurvevedelikkromatograafia (HPLC) abil ning saadi fraktsioonid, mis puhastati solventidest ja mida analüüsiti sensoorselt. Sensoorselt kõige kibedamaks hinnatud fraktsioonis lahutati semipreparatiivse HPLC abil fraktsioonis sisalduvad üendid teineteisest ning tehti kindlaks ühendite struktuurid. Sarnase põhimõttega katset on teostatud ka kaerajahu näitel (Günther-Jordanland et al., 2016).

Hiljutisemad uuringud on keskendunud kaeras ja hernes sisalduvate ühendite sensoorsete aktiivsuse leidmisele, et leida olulisimad kibedust põhjustavad üendid hernes ja kaeras. Gläser et al., (2021) määrasid varasemas uuringus võtmeühenditena tuvastatud lipiidsete ühendite sisaldust ning igale ühendile leiti sensoorne aktiivsus (DoT faktor). Kui ühendi sisaldus tooraines ületas ühendi maitseläve kontsentratsiooni, siis peeti seda kibeduse võtmeühendiks. Günther-Jordanland

et al., (2020) teostasid sarnase uuringu kaerajahu näitel, kuid vaadeldi laiemalt erinevaid maitseaktiivseid ühendeid lisaks kibeda ühenditele.

1.5 Uurimistöö eesmärk

Magistritöö eesmärk oli määrata kaera- ja hernetoodetes leiduvate kibedate võtmeühendite sisaldus ning leida seosed, milliste ühenditega on analüüsitud kaera- ja hernetoodete kibeduse tajumine seotud. Teiseks eesmärgiks oli uurida kaera- ja hernetoodetes oleva kibeduse tajumist treenitud assessorite paneelis ning võrrelda seda klassikaliselt kasutatavate standardmolekulide kibeduse tajumisega. Kolmandaks eesmärgiks oli uurida kaeras ja hernes oleva kibeduse tajumist populatsiooni tasandil ning võrrelda segatoiduliste (omnivoor/fleksitaarlane toitumisgrupp) ja taimtoiduliste (vegan/vegetaarlane toitumisgrupp) kibeduse tajumist antud toormaterjalides.

2. Materjalid ja meetodid

Uurimistöö praktiline osa baseerub varasemalt publitseeritud artiklil „*Individual differences in sensitivity to bitterness focusing on oat and pea preparations*“ (Vaikma et al., 2022), mille kaasautoriks käesoleva lõputöö autor on. Autori rolliks publikatsiooni valmimisel oli töö uurimisprobleemi sõnastamine, kirjanduse ülevaate koostamine, meetodika väljatöötamine, eksperimentide läbiviimine, andmete kogumine, analüüsimine ja visualiseerimine ning publikatsiooni kirjutamine. Töö meetodite ja tulemuste avaldamine on kooskõlastatud publikatsiooni avaldanud väljaandega.

Tarbijauuringus osalejad ning sensoorse analüüsi paneeli töös osalevad assessorid andsid eelnevalt kirjaliku nõusoleku katses osalemiseks. Osalejaid oli eelnevalt informeeritud katse eesmärgist ning katse käigust. Kõikide osalejate andmeid hoiti konfidentsiaalsena. Katses osalemine oli vabatahtlik ning osaleja võis igal hetkel katses osalemisest loobuda. Kõik osalejad olid terved ja neil ei esinenud allergiat ühegi katses kasutatava toote vastu. Nii sensoorne analüüs kui ka tarbijauuring viidi läbi Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskuse sensoorse analüüsi ruumis, mis vastab ISO 8589:2007 standardile.

Töö raames teostati kaera- ja hernetoodetele instrumentaalsed analüüsid rasvhapete ja saponiinide sisalduse määramiseks. Rasvhapete analüüs teostati Anastassia Bljaghina poolt ultraefektiivse vedelikkromatograafia-massispektromeetria meetodil (UPLC-MS). Saponiinide analüüs teostati hüdrofiilse interaktsiooni vedelikkromatograafia-massispektromeetria (HILIC-MS) meetodil Anastassia Bljaghina ja Kristiina Loiti poolt vastavalt Bljaghina et al., (2023) publikatsioonis toodud meetodikale.

2.1 Treenitud assessorite kibeduse tajumine kaera- ja hernetoodetes ning standardühendites

Sensoorsed analüüsid viidi läbi treenitud assessorite paneeliga. Sensoorse analüüsi paneeli on varasemalt treenitud ja hinnatud vastavalt ISO 8586:2012 standardile. Paneeli liikmetel on aastatepikkune kogemus taimsete valkude ning nendest valmistatud toodete hindamisel.

2.1.1 Meetodika arendus

Eelkatsed viidi läbi üheksa treenitud assessoriga. Eesmärgiks oli kindlaks teha, et kasutatavad kontsentratsioonid võimaldaval kirjeldada erinevusi kibeduse tundlikkuses assessorite ja proovide vahel. Kaera- ja hernetoodete kontsentratsioonid pandi paika eelkatsete käigus järgides eeltoodud põhimõtteid. Puhaste ühendite kontsentratsioonid valiti kirjanduses toodud andmete põhjal. Rasvhapete kontsentratsioonide valikul tugineti Günther-Jordanland et al., (2020) publikatsioonile, kus oli kindlaks tehtud kaerajahus leiduvate rasvhapete sensoorsed aktiivsused (DoT – ühendi kontsentratsiooni ja ühendi kibeduse maitaseläve kontsentratsiooni suhe). Linoleenhappe DoT faktori järgi arvutati kontsentratsioon mõlemale rasvhappele eesmärgiga antud ühendeid paremini võrrelda.

Kõik lahused maitsti üle eelkatsete käigus ning valideeriti nende sobivus eksperimendi tarbeks. Kuna on teada, et taimsetes toormaterjalides võib esineda hapusust ja kootavust, mis võivad mõjutada kibeduse tajumist, siis hinnati eelkatsetes lisaks kibedusele ka kootavuse ja hapu aistingu intensiivsust. Antud aistingute intensiivsused olid väga madalad, mistõttu jäeti mainitud parameetrid põhikatses välja.

2.1.2 Materjalid

Tabelis 1 on toodud sensoorsel analüüsil kasutatud ühendid ja toormaterjalid ning nende kontsentratsioonid.

Tabel 1. Sensoorse analüüsi proovid

Ühend/toode	Kontsentratsioon (g/l)	Tootja	Viide
Kollase herne jahu	65	Tammejuure Mahetalu OÜ, Tammejuure, Eesti	-
Hernevalgu kontsentraat	65	Aloja Starkelsen SIA, Ungurpils, Läti	-
Täistera kaerajahu	65	Tammejuure Mahetalu OÜ, Tammejuure, Eesti	-
Kaeravalgu kontsentraat	65	(ProAtein) Tate & Lyle PLC, London, Suurbritannia	-
α -linoleenhape (99%)	1,01	Sigma-Aldrich, Burlington MA, Ameerika Ühendriigid	Günther-Jordanland et al., (2020)
Linoolhape (95%)	6,65	Sigma-Aldrich, Burlington MA, Ameerika Ühendriigid	Günther-Jordanland et al., (2020)
L-trüptofaan	3	Fitness Trading, Zambrów, Poola	Solms (1969)
Kiniin hüdrokloriid dihüdraat (95%)	0,0125	Sigma-Aldrich, Burlington MA, Ameerika Ühendriigid	Roura et al., (2015)
Kofeiin (99%)	0,392	Sigma-Aldrich, Burlington MA, Ameerika Ühendriigid	Roura et al., 2015)

Lahuste valmistamiseks kasutati järgmisi töövahendeid: keeduklaasid (600ml), mõõtsilindrid (500ml, 1000ml), lusikad, automaatpipetid (1000 μ l, 200 μ l), pipetiotsikud, tehniline ja analüütiline kaal, homogenisaator (Polytron). Lahuste valmistamisel kasutati Saku Läte OÜ joogivett.

Rasvhapete vees lahustamiseks kasutati 0,1% ksantaankummi (Piprapood OÜ) lahust. Sensorse analüüsi läbiviimisel ja proovide serveerimisel kasutati järgmisi töövahendeid: klaaspitsid (30ml), lusikad, tahvelarvutid, ninaklambrid, papptopsid. Proovide hindamise vahepeal olid assessorite jaoks paleti puhastamiseks kasutusel vesi ja kreekerid. Sensorse hindamise ajal kasutati ninaklambreid eesmärgiga vältida lõhnade võimalikku segavat mõju kibeduse tajumisele.

2.1.3 Meetodid

Lahuste valmistamiseks kaaluti komponendid, lisati vesi ning lahuseid segati lusikaga. Rasvhapete vees lahustamiseks mõõdeti rasvhapped automaatpipetiga ksantaankummi lahusesse ning lahust segati homogenisaatoriga. Kuna kaera- ja hernetooted ei lahustunud vees täielikult, siis segati lahuseid proovitopsidesse doseerimise ajal pidevalt, et tagada proovide ühtlus. Proovid kodeeriti kolmekohaliste randomiseeritud koodidega ning serveeriti 30ml läbipaistvates plastiktopsides. Assessorite proovide hindamisjärjekord oli erinev ning paika pandud Williami ladinaruudu disaini (*William's Latin Square*) kasutades. Proovid olid hindamise ajal toatemperatuuril (21-22°C).

Sensoorsel hindamisel osales kaksteist treenitud assessorit vanuses 31±6 aastat. Sensorse analüüsi hindamissessioonid toimusid ühe nädala jooksul kahel erineval päeval ning kokku toimus neli hindamissessiooni. Sessioonid toimusid hommikul ajal ning samadel kellaaegadel, et vältida kellaajast tulenevat varieeruvust kibeduse tundlikkuses. Ühe sessiooni pikkuseks oli 10-15 minutit. Kahe sessiooni vahel oli 45-minutiline paus, et assessorid jõuaksid eelmisest hindamissessioonist taastuda. Vältimaks sensorse väsimuse teket, hoiti ühes sessioonis hinnatavate proovide arv madal: igas sessioonis hinnati viis proovi. Igat proovi hinnati kokku kahel korral.

Kuna eelkatsete tulemuste põhjal oli kiniin üks stabiilsemate hinnangutega proove ning kõigi assessorite poolt tajutud kibedana, siis otsustati iga sessiooni esimese proovina kasutada kiniini kui referentsproovi eesmärgiga võrrelda erinevate sessioonide tulemusi. Algselt standardiseeriti sensorse analüüsi tulemusel saadud intensiivsuse hinnangud sama sessiooni kiniini hinnangu intensiivsusega jagades. Selle eesmärk oli vähendada võimalikke erinevusi, mis võivad tuleneda tundlikkuse ja skaala kasutuse erinevustest päevade ja sessioonide lõikes. Standardiseeritud ja standardiseerimata tulemusi võrreldes ilmnis, et hindamiskooride erinevus ei korreleerunud kiniini erinevustega sessioonide lõikes, mistõttu tulemusi ei standardiseeritud edaspidisteks analüüsideks.

Kuna osadel proovidel esines sadet, siis paluti assessoritel lahuseid segada enne maitsmist eesmärgiga tagada lahuste ühtlus. Sensorse analüüsi hindamisleht on toodud lisas 1. Sensorisel analüüsil kasutati hindamisskaalat 0-9, millel olid märksõnad (0 – Puudub, 1 – Väga madal, 5 – Keskmine, 9 – Väga tugev). Maitsmise ajal kasutati ninaklambreid, et vältida retronasaalsete aistingute võimalikku mõju kibeduse tajumisele. Kuna mõningate kibedate ühendite puhul on aistingu intensiivsus ajas muutuv, siis seati igale proovile hindamisajaks 1 minut, misjärel oli võimalik hindamislehele üles märkida maksimaalne tajutav aistingu intensiivsus. Kõik proovid sülitati maitsmisjärgselt välja, kasutades papptopsi. Enne järgmise proovi hindamist paluti assessoritel paleti puhastamise eesmärgil süüa kreekerit ja juua vett. Kuna mitmetel proovidel oli pikk järelmaitse, siis paus kahe proovi hindamise vahel oli 1 minut, et assessorid taastuksid eelmise proovi hindamisest.

2.2 Tarbijate kibeduse tajumine kaeras ja hernes

2.2.1 Materjalid

Tarbijakatses proovideks olid kaera- ja hernejahu, mis on toodud välja tabelis A. Võrreldavuse eesmärgil kasutati tarbijakatses sama kontsentratsiooniga lahuseid nagu treenitud paneeli puhul ning proovide ettevalmistus oli sarnane nagu on toodud peatükis 2.2.2.

2.2.2 Meetodid

Tarbijauuringus osales sada inimest vanuses 32±10 aastat, kelle hulgas oli kakskümmend meest ja kaheksakümmend naist. Toitumise järgi jaotusid osalejad kahte gruppi: nelikümmend kolm inimest toitumisgrupis vegan/vegetaarlane ning viiskümmend seitse inimest toitumisgrupis omnivoor/fleksitaarlane. Kuna antud katse fookuseks oli uurida eelkõige toitumisharjumuste mõju kibeduse tundlikkusele, siis ei olnud eesmärgiks saada võrdse soolise jaotusega valimit. Hayes et al., (2013) on oma töös välja toonud, et toitumisharjumused võivad mängida suuremat rolli kibeduse tundlikkuse tajumisel kui geneetilised erisused.

Tarbijakatse proovid serveeriti osalejatele kaanega topsides (30ml). Kuna lahustel esines sadet, siis paluti osalejatel topsi sisu raputada vahetult enne proovi maitsmist. Hindamise ajal kasutati ninaklambreid. Hindamisel kasutati skaalat 0-9, millel olid märksõnad 0 – „Puudub“ ja 9 – „Ülimalt tugev“. Iga proovi hindamisaeg oli 1 minut, misjärel paluti osalejal märkida skaalale kõrgeim tajutud kibeduse intensiivsus. Hindamisleht on toodud lisa 2. Kahe proovi hindamise vahel oli 1-minutiline paus, et vältida kibeda maitse akumulereerumist suus. Proovide hindamisjärjekorda varieeriti.

2.3 Rasvhapete analüüs kaera- ja herneproovides UPLC-MS meetodil

2.3.1 Materjalid

Kasutatavateks reagentideks olid atsetonitriil (MeCN, HPLC klass, ≥99,9%), metanool (HPLC klass, ≥99,9%), ammooniumformiaat (HPLC klass, ≥99,9%), isopropüülalkohol (IPA) (HPLC klass, ≥99,9%) (Honeywell, Charlotte, NC, USA) ja milliQ vesi (MQ, Millipore). Välisstandarditena kasutati α-linoleenhapet (≥99%) ja linoalhapet (≥99%) (Sigma-Aldrich, Saksamaa). Rasvhapete ekstraktsioonil kasutati antioksidandina butüülhüdrosütolueeni (BHT) (≥99,9%). Analüüsitavateks proovideks olid kaera- ja hernetooteid, mis on välja toodud tabelis 1.

2.3.2 Meetodid

Rasvhapete ekstraktsioon teostati vastavalt Lainer et al., (2020) publitseeritud meetodikale, kuid mõningate modifikatsioonidega. Proov (0,2g, n=3) kaaluti 15ml falkonitesse, lisati 10ml metanooli, millele oli eelnevalt lisatud 0,05% antioksidanti BHT. Proovi segati esmalt vorteksil ja seejärel üks tund rotaatoril (SB83 tuubirotaator, Stuart, UK), et ühtlustada proov. Proovi tsentrifuugiti 10 minutit (17,000×g, 20°C) ning saadud lahus dekanteeriti teise falkonisse. Kirjeldatud ekstraktsiooniprotseduuri viidi läbi kolm korda ning saadud ekstraktid (3x10ml) segati kokku ja filtreeriti läbi Sartorius RC 0,2µm filtri. Filtreeritud lahus süstiti LC-MS seadmesse. Analüütide detekteerimiseks kasutati Waters UPLC® süsteemi (Waters Corporation, Milford, MA, USA), mis oli

ühendatud Waters Quattro Premier XE massispektromeetriga, mis oli varustatud ZSpray™ ionisatsiooniallikaga ja kontrollitud Waters MassLynx™ 4.1 programmiga (V4.1 SCN805, Waters Corporation).

Rasvhapete identifitseerimisel ja kvantifitseerimisel kasutati eelnevalt publitseeritud Waters Corporation poolt väljatöötatud meetodikat (Munjoma et al., 2021). Gradientelueerimisprogrammis (Lisa 3) oli kasutusel kaks mobiilset faasi: eluent A1 (60% MeCN, 39% MQ, 1% ammoniumformiaat (1M)) ja eluent B1 (90% IPA, 9% MeCN, 1% ammoniumformiaat (1M)). Analüüsil kasutati ACQUITY™ Premier CSH C18 1,7µm (2,1x100mm), VanGuard™ FIT kolonni. Kolonni temperatuur oli 50°C ning süstimise maht 5µl. Analüütide identifitseerimiseks ja kvantifitseerimiseks kasutati elektrosprei ionisatsiooni meetodit ning kasutatav kapillaari pinge oli 1,5kV ning α-linoleenhape (C18:3) *m/z* (massi-laengu suhe) oli 277,20 ja linoolhape (C18:2) *m/z* oli 279,20.

Alfa-linoleenhape ja linoolhape kvantifitseerimiseks koostati kalibratsioonikõveragraafikud. Kalibratsioonikõver oli mõlema rasvhappe puhul lineaarne vahemikus 0,04mg/l kuni 5mg/l. Saadud piikide pindalad ja vastavad välisstandardi kontsentratsioonid paigutati graafikule ning leiti sirge võrrand ($y=ax+b$, kus x – piigi pindala; y – analüüdi kontsentratsioon, mg/l). Proovide analüüsimisel leiti vastavalt saadud piigi pindalale kalibratsioonikõvera abil analüüdi kontsentratsioon proovis.

2.4 Saponiinide analüüs kaera ja herneproovides HILIC-MS meetodil

2.4.1 Materjalid

Kasutatavateks reagentideks olid atsetonitriil (HPLC klass, ≥99,9%), metanool (HPLC klass, ≥99,9%), etanool (HPLC klass, ≥99,9%), heksaan (HPLC klass, ≥99,9%), isopropüülalkohol (IPA) (HPLC klass, ≥99,9%), sipelghape (98%) (Honeywell, Charlotte, NC, USA) ja MilliQ vesi (Millipore). Standardühenditeks olid avenakosiid A, saponiin B (sojasaponiin I), sojasaponiin Ba phyproof® (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Saksamaa) ja isotoopmärgistatud kaeraseemnejahu ($U-^{13}C$ kaeraseemned, *Avena sativa* 97 aatom%), millest ekstraheeriti $U-^{13}C$ avenakosiid (IsoLife BV, Wageningen, Holland). Analüüsitavateks proovideks olid kaera- ja hernetooted, mis on toodud tabelis 1.

2.4.2 Meetodid

Avenakosiidi ekstrakt saadi $U-^{13}C$ isotoopmärgistatud kaeraseemnejahu ekstraheerimisel 70% etanooliga, mida töödeldi ultraheliga ja tsentrifuugiti. Saadud supernatant puhastati kasutades PLD+ kolonni. Proovide ekstraktsiooniks kaaluti 100mg proovi 10ml volümeetrilisse kolbi ($n=3$). Kolb täideti mahuni 70% etanooliga, kolvi sisu segati ja töödeldi ultraheliga 30 minutit. Seejärel proovid tsentrifuugiti (14,000×g, 10 minutit, 10°C). Saadud supernatant puhastati valkudest ja fosfolipiididest, kasutades PLD+ Biotage Isolute® kolonni (Biotage Sweden AB, Uppsala, Rootsi). Saadud filtraat lahjendati MeCN lahuses ning saadud lahuse MeCN kontsentratsiooniks oli 50%. 100µL filtraati viidi üle LC-MS viaali ning segati 50µL sojasaponiin B sisestandardi ja 50µL $U-^{13}C$ kaeraekstrakti lahusega. Saadud segu süstiti LC-MS aparati. Analüütide detekteerimiseks kasutati Waters UPLC® süsteemi (Waters Corporation, Milford, MA, USA), mis oli ühendatud Waters Quattro

Premier XE massispektromeetriga, mis oli varustatud ZSpray™ ionisatsiooniallikaga ja kontrollitud Waters MassLynx™ 4.1 programmiga (V4.1 SCN805, Waters Corporation).

Saponiinid lahutati kasutades BEH Amide kolonni (1,0×50mm, 1,7µm) koos BEH Amide VanGuard pre-kolonniga (2,1×5mm) (Waters Corporation, Milford, MA, USA). Analüüsil kasutati gradientelueerimist ning analüütide idenifitseerimiseks ja kvantifitseerimiseks kasutati elektrosprei ionisatsiooni meetodit. Elueerimise ja massispektromeetria parameetrid olid samasugused nagu on toodud (Bljaghina et al., 2023) töös.

Kaera saponiinide sisalduse määramisel kasutati sisestandardina U-¹³C avenakosiid A-d, mis oli ekstraheeritud isotoopmärgistatud (U-¹³C) kaerateradest, ning välisstandardina avenakosiid A-d. Herne saponiinide sisalduse määramisel kasutati sisestandardina sojasaponiin Ba-d ning välisstandardina saponiin B-d. Avenakosiid A kalibratsioonigraafiku jaoks teostati analüüsid kalibratsioonilahustega (n=8) kontsentratsioonil 0,01-2,44mg/l koos lisatud sisestandardi U-¹³C avenakosiid A-ga (0,3mg/l), mille kontsentratsioon hoiti konstantne. Saponiin B kalibratsioonigraafiku jaoks teostati analüüsid samuti kaheksal erineval välisstandardi kontsentratsioonil vahemikus 0,01–2,48mg/l koos sisestandardi sojasaponiin Ba-ga (0,75mg/l), mille kontsentratsioon oli igal analüüsil konstantne. Kalibratsioonigraafiku tegemiseks leiti vastavate analüütide vastusfaktorid (RF) valemiga 1:

$$RF = \frac{\text{Välisstandardi piigi pindala}}{\text{Sisestandardi piigi pindala}} \quad (\text{Valem 1})$$

Saadud vastusfaktorite väärtused ja vastavad välisstandardi kontsentratsioonid paigutati graafikule ning leiti sirge võrrand ($y=ax+b$, kus x – RF; y – analüüdi kontsentratsioon, mg/l). Proovi analüüsimisel leiti vastavalt saadud piigi pindalale samuti RF (Valem 2) ning kalibratsioonigraafiku abil leiti analüüdi kontsentratsioon proovis.

$$RF = \frac{\text{Analüüdi piigi pindala}}{\text{Sisestandardi piigi pindala}} \quad (\text{Valem 2})$$

Kuna vaid avenakosiid A oli saadaval kommertsiaalse standardina, siis kvantifitseeriti avenakosiid B ja 26-deglükoavenakosiid A suhteliselt, kasutades avenakosiid A kalibratsioonikõverat ning saadud tulemused esitati avenakosiid A ekvivalendina. DDMP saponiin kvantifitseeriti suhteliselt, kasutades saponiin B standardkõverat ning tulemused esitati saponiin B ekvivalendina.

2.5 Andmeanalüüs

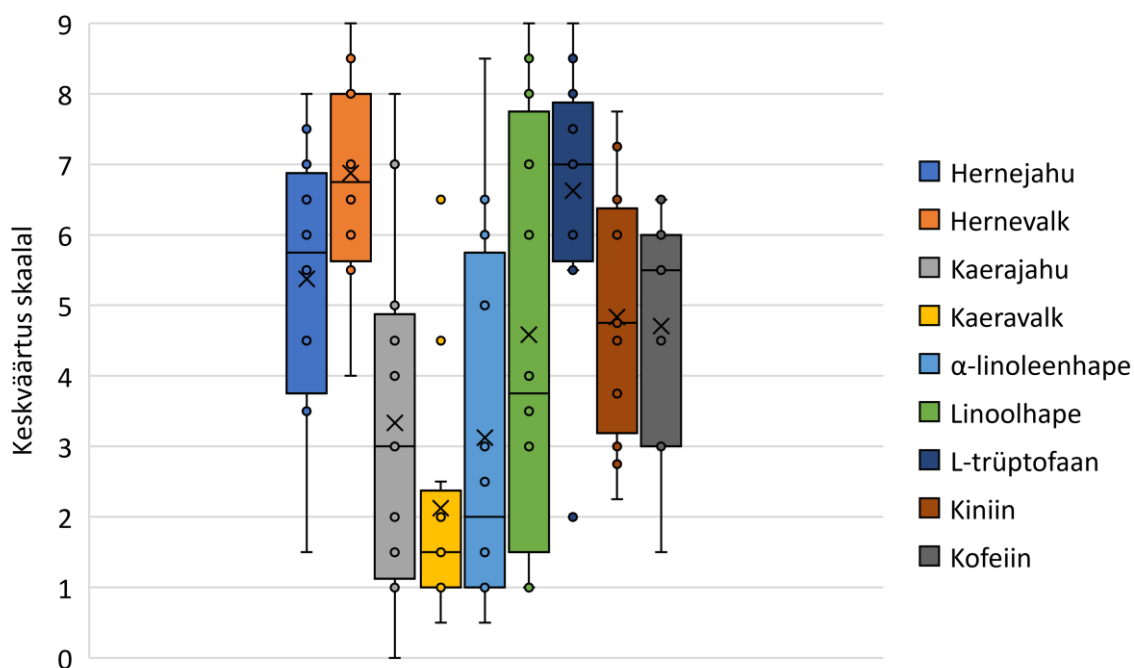
Tarbijate värbamine ning tarbijakatse ja sensoorse hindamise andmete kogumine teostati RedJade sensoorse analüüsi tarkvara abil (RedJade Sensory Solutions LLC, Martinez CA, USA). Sensoorse analüüsi ja tarbijakatse katseandmete sorteerimiseks, analüüsimiseks ja visualiseerimiseks kasutati MS Excel programmi (Microsoft, Redmond WA, USA). Assessorite ja paneeli korratavust hinnati Panelcheck tarkvara (versioon 1.4.2, Nofima, Tromsø, Norra) abil, kasutades kolmefaktorilist dispersioonanalüüsi (ANOVA) analüüsi. Statistiliseks analüüsiks kasutati programmi R versioon 4.2.0 (The R Foundation for Statistical Computing, Viin, Austria). Nii tarbijakatse kui ka sensoorse analüüsi andmed ei järginud normaaljaotust, mistõttu kasutati tarbijakatse andmete jaoks Wilcoxon rank-sum testi, et kontrollida statistiliste erinevuste olemasolu toitumisgruppide kibeduse tundlikkuse

vahel ning toorainete kibeuse erinevuse vahel. Sensoorsel analüüsil hinnatud komponentide puhul vaadeldi nende omavahelisi korrelatsioone, kasutades Spearmani korrelatsioonikoefitsenti. Instrumentaalanalüüsi andmed koguti kasutades Waters MassLynx™ 4.1 tarkvara (V4.1 SCN805, Waters Corporation, Milford, MA, USA) ning andmeanalüüsiks kasutati Microsoft Excel® tarkvara (Microsoft 365 Apps for enterprise).

3. Tulemused ja arutelu

3.1 Treenitud assessorite kibeduse tajumine kaera- ja hernetoodetes ning standardühendites

Sensoorse analüüsi andmed on toodud lisa 4. Kolmefaktorilist ANOVA analüüsi kasutades hinnati assessorite ja paneeli korratavust. Leiti, et assessorite paralleelhindamiste vahel ja paralleelsessioonide vahel puudus statistiliselt oluline erinevus ($p > 0,05$). Joonis 3 annab ülevaate hinnatud komponentide kibeduse tajumise varieerumisest. Kõige suurem variatsioon esines linoolhappe, alfa-linoleenhappe ja kaerajahu kibeduse tajumises. Kaeravalgu kibeduse tundlikkus oli kõikidel assessoritel väga madal, välja arvatud kahel assessoril, mistõttu on need joonisel märgitud eraldi punktina. Kaeratooteid ja rasvhappeid tajuti valdavalt vähekihedana, vaid vähesed assessorid olid kõrge tundlikkusega mainitud ühendite ja toormaterjalide kibeduse suhtes. Kibeduse hindamist rasvhapetes muudavad keerukamaks teised aistingud, mida rasvhapped võivad tekitada: varasemalt on kirjeldatud rasvhappeid sensoorselt kõrvetavana, ärritavana ja kriipivana (Delompré et al., 2019; Günther-Jordanland et al., 2016).



Joonis 3. Komponentide kibeduse tundlikkuse varieerumine (karpdiagramm). Andmestik on jaotatud kvartiilideks. Horisontaalne joon näitab mediaani, karbi otsad vastavalt ülemist ja alumist kvartiili ning joonte otspunktid näitavad minimaalset ja maksimaalset väärtust. Ringid illustreerivad sensoorseid kibeduse hindaid. Ringid, mis paiknevad väljaspool maksimaalse ja minimaalse väärtuse vahemikku on andmestiku kõrvalekalded (*outliers*)

Üldistatult võib märkida, et puhaste ühendite, välja arvatud rasvhapete, puhul oli variatsioon kibeduse tundlikkuses väiksem: vaid kiniini puhul oli varieerumine suurem võrreldes kofeiini ja L-trüptofaaniga. Kui trüptofaani tajuti üldiselt väga kibedana, siis üks assessor eristus ülejäänutest väga madala tundlikkusega trüptofaani suhes. Üldiselt tajuti kibedamalt hernevalku võrdluses hernejahuga ning kaerajahu võrdluses kaeravalguga. Kaera- ja hernetooteid võrreldes oldi tundlikumad hernes oleva kibeduse suhtes.

Saadud tulemused näitavad, et levinud kibeduse standardite tundlikkus varieerus vähem võrreldes katses kasutatud rasvhapete ning kaera- ja hernetoodetega. See näitab ilmekalt, et antud klassikaliste standardite kasutamine kaera- ja hernebaasil toodete sensoorsel analüüsil ei ole otstarbekas, kuna inimeste tundlikkus erinevatele ühenditele on erinev. Seetõttu tuleks võimalusel eelistada hoopis standardeid, mida hinnatav tooraine või toode juba sisaldab. Tulemused illustreerivad hästi ka seda, et taimsete toorainete sensoorsel hindamisel on vajalik sensoorse paneeli kokkupanemisel võtta arvesse sellised tegureid nagu kibeduse tundlikkus spetsiifilise toormaterjali suhtes. Näiteks kui soovitakse sensoorselt hinnata kibeduse intensiivsust kaera baasil toodetes, siis tuleks paneeli koosseisu valida assessorid, kes on tundlikud kaeras oleva kibeduse suhtes.

Tabelis 2 on näidatud sensoorsel analüüsil hinnatud komponentide kibeduse omavahelised korrelatsioonid. Hernevalgu ja -jahu vahel esines kõrge korreleerumine, samuti kaerajahu ja -valgu vahel. Rasvhapetest oli alfa-linoleenhape tajutav kibedus korrelatsioonis kaerajahuga, mis vastas varasemalt kirjanduses toodud infole, et kaera kibeduses on rasvhapped ühtedeks võtmeühenditeks (Günther-Jordanland et al., 2020). Mainitud artiklis oli siiski leitud, et linoolhappel on suurem mõju sensoorselt tajutavale kibedusele kui alfa-linoleenhappel. Samas oli kaeravalgu ja alfa-linoleenhappe vaheline korreleerumine madal ning linoolhappe puhul oli korreleerumine kõrgem kaerajahu puhul, kuigi mõlemas tooraines olid korreleerumised linoolhappega madalad. Herne- ja kaeratoodete vaheline kibeduse tajumine ei olnud korrelatsioonis. Kuigi varasemalt on kirjanduses linool- ja alfa-linoleenhapet mainitud kui kibeduse seisukohalt olulisi võtmeühendeid hernetoodetes (Gläser et al., 2020, 2021), siis antud eksperimendi tulemused näitasid rasvhapete ja hernetoodete vahel hoopis madalat negatiivset korrelatsiooni.

Tabel 2. Sensoorsel analüüsil hinnatud komponentide kibeuse tajumise korrelatsioonid (Spearmani korrelatsioonikoefitsient). Tärniga (*) on tähistatud statistiliselt olulised korrelatsioonid

	Hernejahu	Hernevalk	Kaerajahu	Kaeravalk	α -linoleenhape	Linoolhape	L-trüptofaan	Kiniin	Kofeiin
Hernejahu	1,00	0,83*	-0,03	0,18	-0,54	-0,56	0,10	0,09	-0,11
Hernevalk	0,83*	1,00	-0,06	0,17	-0,51	-0,46	-0,03	0,20	-0,35
Kaerajahu	-0,03	-0,06	1,00	0,75*	0,61*	0,48	-0,32	0,29	-0,01
Kaeravalk	0,18	0,17	0,75*	1,00	0,35	0,30	-0,25	0,26	-0,08
α -linoleenhape	-0,54	-0,51	0,61*	0,35	1,00	0,95*	-0,51	-0,08	-0,01
Linoolhape	-0,56	-0,46	0,48	0,30	0,95*	1,00	-0,48	-0,05	-0,02
L-trüptofaan	0,10	-0,03	-0,32	-0,25	-0,51	-0,48	1,00	0,22	0,43
Kiniin	0,09	0,20	0,29	0,26	-0,08	-0,05	0,22	1,00	-0,33
Kofeiin	-0,11	-0,35	-0,01	-0,08	-0,01	-0,02	0,43	-0,33	1,00

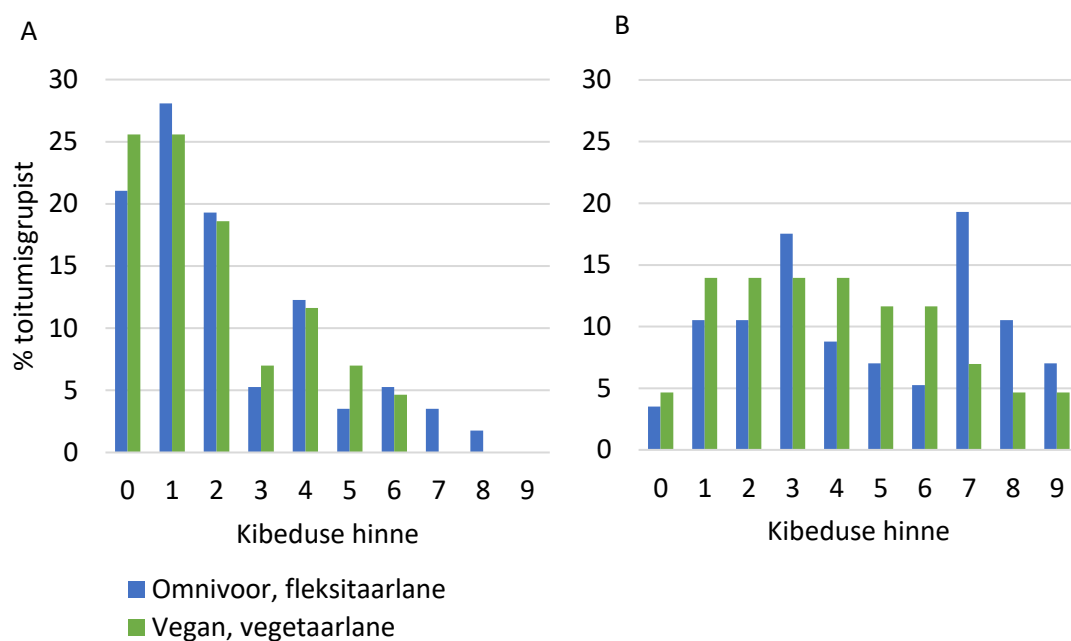
Rasvhapete alfa-linoleenhappe ja linoolhappe vahel esines kõrge korreleerumine ning on leitud, et rasvhapete tajumine toimub samade retseptorite vahendusel. Rasvhapete maitse tajumisel rolli mängivates HTC-8 rakkudes on lisaks rasva maitse retseptoritele ekspresseeritud ka kibeada retseptorid TAS2R16 ja TAS2R38 (Ozdener et al., 2014), kuid kirjanduse andmetel ei ole kiniini, kofeiini ja L-trüptofaani kibeuse tajumine mainitud retseptoritega seotud ning korrelatsioone rasvhapete ning klassikaliste standardmolekulide vahel ei esinenud.

Antud töös ei olnud kofeiini ja kiniini kibeuse tajumise tulemused omavahelises korrelatsioonis, kuigi on kindlaks tehtud, et kofeiinil ja kiniinil on ühiseid retseptorid TAS2R7, TAS2R10, TAS2R14, TAS2R43 ja TAS2R46 (Meyerhof et al., 2010). Samas varasem eksperiment Roura et al., (2015) poolt näitas kofeiini ja kiniini vahelist korrelatsiooni. Kofeiini puhul võib üheks oluliseks aspektiks olla ka assessorite kohvi- ja tee tarbimisharjumused, mis kiniini puhul ei ole niivõrd oluline, kuna selle tarbimine ei ole üldiselt sage (Lipchock et al., 2017). Lipchock et al., (2017) uurisid seoseid kofeiini ja kiniini tarbimise ning tundlikkuse vahel antud ühendite suhtes. Leiti, et kofeiini tarbimise sagedus oli seotud kofeiini kibeuse tajumisega, kuid kiniini puhul mitte. Tuleb märkida, et kiniini tarbimine oli katses osalejate seas harv.

L-trüptofaan ja kofeiin olid nõrgas korrelatsioonis ja tänaseks on leitud, et ühendid seonduvad ühisele retseptorile TAS2R43 (Delompré et al., 2019; Meyerhof et al., 2010). Kiniini ja L-trüptofaani kibeuse tundlikkuse hinnangud ei korreleerunud, kuigi mainitud ühendid võivad seonduda ühistele retseptoritele TAS2R4 ja TAS2R34 (Delompré et al., 2019; Meyerhof et al., 2010). Tuleb märkida, et kõik kibeuse tajumise mehhanismid ei ole lõplikult läbi uuritud ning uusi avastusi antud valdkonnas lisandub pidevalt. Samuti ei ole siiani teada, millistele retseptoritele seonduvad saponiinid (Shuntang, 2018).

3.2 Tarbijate kibeduse tajumine kaeras ja hernes

Tabrijauuringu andmed on toodud lisas 5. Tarbijate kibeduse tundlikkuse jaotus kaera ja herne osas erines märkimisväärselt (joonis 4). Hernejahu puhul oli näha, et kibeduse tundlikkus jaotus skaala osas võrdsemalt kui kaerajahul ning inimesi, kes kibedust ei tundnud, oli vähe. Kaerajahu puhul oli kibedusele väga tundlikke osalejaid vähe ning suur osakaal oli inimestel, kes ei tundnud kaerajahu kibedust (hernejahul vastavalt 4% ning kaerajahul 23%). Suurem osa vastajatest tajusid kaerajahu kibedust madala intensiivsusega (skaalal 0-2). Statistiliselt oluline erinevus kahe tooraine kibeduse tundlikkuse vahel tuli välja ka Wilcoxon rank-sum testiga ($p < 0,001$). Kõrvutades eraldiseisvalt iga osaleja kibeduse hinnanguid, siis leiti, et 79% osalejate jaoks oli herne kibedus intensiivsem kui kaera oma ja 13% osalejate jaoks oli kaera kibedus intensiivsem võrreldes herne kibedusega. 8% osalejaid tajusid toorainete kibeduse intensiivsust võrdselt. Toitumisgruppide vahelises kibeduse tundlikkuses (vegan/vegetaarlane ja omnivoor/fleksitaarlane) ei tulnud esile märkimisväärsed erinevusi. Kaerajahu puhul oli näha, et omnivoor/fleksitaarlane grupis olid üksikud tarbijad olnud kibedusele väga tundlikud ning hernejahu puhul oli omnivoor/fleksitaarlane grupi puhul osakaal skaala kõrgemas otsas (7-9) suurem. Wilcoxon rank-sum test näitas mõlema tooraine puhul, et märkimisväärne erinevus toitumisgruppide vahel kibeduse tundlikkuses puudub ($p > 0,05$).



Joonis 4. Vegan/vegetaarlane ja omnivoor/fleksitaarlane toitumisgruppide kibeduse tajumise varieerumine kaeras ja hernes (A – kaer; B – herne)

Sarnaselt treenitud assessoritele, olid tarbijad kaera kibeduse suhtes keskmiselt vähem tundlikumad kui hernejahu puhul. Treenitud paneeli keskvärtused olid mõlema tooraine puhul veidi kõrgemad tarbijate keskvärtustest (kaerajahul vastavalt $3,3 \pm 2,6$ ja $2,1 \pm 2,0$ ning hernejahul vastavalt $5,4 \pm 2,0$ ja $4,4 \pm 2,6$) kuigi variatsiooni suurus oli treenitud assessorite ja tarbijate valimis sarnane.

3.3 Kaera- ja hernetoodete kibedate ühendite sisaldus ning seosed kibeduse tajumisega

Tabelis 3 on välja toodud kaera- ja hernetoodete rasvhapete ning saponiinide analüüside tulemused (avenakosiidide sisaldust määrati vaid kaeratoodetes ning DDMP saponiini ja saponiin B-d hernetoodetes). Alfa-linoleenhappe sisaldus toodetes oli vahemikus 0,35-1,14mg/g ning kõige enam sisaldus alfa-linoleenhapet kaerajahus. Linoolhappe sisaldused proovides jäid vahemikku 0,47-9,89mg/g, kusjuures kõige enam linoolhapet sisaldus samuti kaerajahus. Saponiin B sisaldused hernetoodetes olid vahemikus 0,16-0,22mg/g ning saponiin B-d sisaldus veidi enam hernevalgus. DDMP saponiini sisaldus herneproovides oli 1,04-1,82mg/g ning kõrgem hernejahus kui hernevalgus. Avenakosiid A kogus kaeraproovides oli vahemikus 0,16-0,58mg/g, mida sisaldus enam kaeravalgus, ning avenakosiid B sisaldus 0,21-0,28mg/g, mille sisaldus oli kaerajahus ja -valgus peaaegu sama. 26-desglükoavenakosiid A sisaldus oli kaeraproovides samasugune, 0,05mg/g.

Tabel 3. Kaera- ja hernetoodete rasvhapete ning saponiinide sisaldus

Ühend (mg/g)	Proov			
	Hernejahu	Hernevalk	Kaerajahu	Kaeravalk
α-linoleenhape C18:3	0,36 ± 0,01	0,44 ± 0,00	1,06 ± 0,08	0,45 ± 0,05
Linoolhape C18:2	0,59 ± 0,04	1,11 ± 0,09	9,43 ± 0,46	4,49 ± 0,58
Saponiin B	0,17 ± 0,01	0,20 ± 0,02	-	-
DDMP saponiin	1,65 ± 0,17	1,08 ± 0,04	-	-
Avenakosiid A	-	-	0,19 ± 0,03	0,54 ± 0,04
Avenakosiid B	-	-	0,22 ± 0,01	0,26 ± 0,02
26-desglükoavenakosiid A	-	-	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Kibeduse intensiivsus (0-9)	5,4 ± 2,0	6,9 ± 1,6	3,3 ± 2,6	2,1 ± 1,9

Günther-Jordanland et al., (2020) analüüsisid oma töös avenakosiidide sisaldust kaerajahus ning leiti, et avenakosiid A sisaldus on 0,25mg/g ja avenakosiid B sisaldus 0,22mg/g, mis on sarnased käesolevas töös saadud tulemustega. Kaeravalgus sisaldus avenakosiide rohkem, mis on ootuspärane tulemus, kuna saponiinid seovad valgulisi komponente. Günther-Jordanland et al., (2020) analüüsisid lisaks avenakosiididele ka alfa-linoleenhappe ja linoolhappe sisaldust kaerajahus ning alfa-linoleenhappe sisalduseks saadi 1,01mg/g, mis oli sarnane antud töös analüüsitud kaerajahuga, ning linoolhappe sisalduseks saadi 16,89mg/g, mis oli enam kui antud töös saadud tulemus. Põhjuseid võib olla mitmeid: erinev kaera sort, võimalikud töötused, toote säilivusaeg ning lipolüütilised protsessid.

Heng et al., (2006) analüüsisid oma töös erinevates hernesortides sisalduvaid saponiine ning said DDMP saponiini sisalduseks 0,7-1,5mg/g ja saponin B sisalduseks 0-0,4mg/g. Hernejahu väärtused langevad kirjanduse tulemustega kokku ning samasse vahemikku jäid ka hernevalgu analüüsil saadud tulemused. Gläser et al., (2021) analüüsisid oma töös linoolhappe- ja alfa-linoleenhappe sisaldust hernevalgu isolaatides ning leidsid alfa-linoleenhappe sisalduseks 0,09-0,72mg/g ja linoolhappe sisalduseks 1-3,42mg/g. Kuigi analüüsitava teks proovideks olid hernevalgu isolaadid, on tulemused kooskõlas antud töö tulemustega ning vaid hernejahu linoolhappe sisaldus jäi allapoole mainitud vahemikku.

Kuigi kaeravalgu kontsentraat sisaldas enam rasva kui kaerajahu (vastavalt 13% ja 6,5%), siis rasvhapete analüüs näitas, et alfa-linoleenhappe ja linoolhappe sisaldus oli kõrgem kaerajahus. Samuti tajuti kaerajahu keskmiselt kibedamana kui kaeravalgu kontsentraati, mis kinnitab, et kaera kibeduses on märgilise tähtsusega just nimetatud rasvhapped. Sensoorne analüüs näitas, et kibeduse korrelatsioon oli kõrgem alfa-linoleenhappe ja kaerajahu vahel kui linoolhappe ja kaerajahu vahel. Linoolhapet hinnati sensoorselt küll keskmiselt kibedamaks kui alfa-linoleenhapet, kuid selle korreleerumine kaerajahu- ja valgu kibedusega oli väiksem. Saponiinide osas ei olnud kahe toote vahel märkimisväärseid erinevusi: vaid avenakosiid A sisaldus oli kaeravalgu kontsentraadis kõrgem.

Hernevalgu kontsentraat oli kõrgema rasvasisaldusega kui hernejahu (vastavalt 3,4% ja 1%) ning sisaldas enam α -linoleenhapet ja linoolhapet. Samuti tajuti hernevalgu kontsentraati keskmiselt kibedamana kui hernejahu. Saponiinidest sisaldas hernejahu enam DDMP saponiini (mis on kirjanduse andmetel kibedam kui saponiin B) kui hernevalgu kontsentraat, samas oli saponiin B sisaldus toodetes sarnane. Kirjanduses on mainitud, et kontsentreeritud hernevalgutooted sisaldavad enam saponiine, kuna saponiinid on seotud valgulise fraktsiooniga (Heng et al., 2006). Heng et al., (2006) leidsid oma töös, et hernestes tajutav kibedus korreleerus saponiinide sisaldusega, kuid käesolevas töös ei tajutud enam saponiine sisaldavat toodet sensoorselt kibedamana. Saadud tulemuste põhjal võiks oletada, et hernetoodete puhul mängivad kibeduses samuti rolli rasvhapped, kuid asjaolu, et rasvhappe standardite kibedus ei korreleerunud hernetoodetes tajutud kibedusega, viitab sellele, et tegemist võib olla muude kibedate ühenditega, nagu näiteks varasemalt kirjanduses mainitud trihüdrosüoktadeteenhapped (Gläser et al., 2021), mille sisaldust antud töö raames ei olnud võimalik määrata.

Kaera puhul leiti seos kibeduse tajumise ja rasvhapete, eeskätt alfa-linoleenhappe sisalduse ja sensoorse kibeduse vahel. Hernetoodete puhul aga ei leitud selgeid seoseid tajutava kibeduse ja käesolevas töös uuritud kibeda ühendite vahel.

3.4 Limitatsioonid

Kõige suuremaks limitatsiooniks käesoleva lõputöö puhul oli saponiinide ja lipiidsete standardühendite saadavus. Puhaste molekulide standarditena kasutamine oleks võimaldanud luua selgemaid seoseid, kui vaid instrumentaalanalüüs. Antud töö raames ei olnud analüütiliselt võimalik määrata mõningaid teisi võtmekomponente, kaera puhul monoglütseriide ja herne puhul trihüdrosüoktadeteenhapped, mida on samuti mainitud kui kibeduse seisukohalt märgilise tähtsusega ühendeid (Gläser et al., 2021; Günther-Jordanland et al., 2020).

Järeldused

Töö tulemusena selgus, et kaerajahu oli kibedam kui kaeravalk ja sisaldas enam alfa-linoleenhapet ja linoolhapet. Korrelatsioonianalüüs näitas tugevamat seost kaerajahu kibeduse ja alfa-linoleenhappe kibeduse vahel. Töö tulemustest järeldub, et kaera kibeduses mängivad rolli rasvhapped, mitte saponiinid. Kaera kibeduse tundlikkus oli varieeruvam kui herne oma.

Hernevalk oli üldiselt kibedam kui hernejahu ja sisaldas enam alfa-linoleenhapet ja linoolhapet kui hernejahu. Antud töö raames ei leitud seost hernetoodete kibeduse, rasvhapete sisalduse ega rasvhapete tajutud kibeduse vahel. Samuti ei tekkinud seost saponiinide sisalduse ja hernetoodete kibeduse vahel: DDMP saponiini sisaldus enam hernejahus, kuigi hernevalk oli kibedam, ja saponiin B sisaldus oli toodetes praktiliselt sama. DDMP saponiin on kirjanduse andmetel kibedam kui saponiin B. Antud töö tulemuste põhjal järeldub, et rasvhapete ja saponiinide roll herne kibeduses on arvatust väiksem ning herne kibeduse tekitajateks võivad olla muud ühendid, mida antud katse raames ei õnnestunud analüüsida, näiteks trihüdroksüoktadeteenhapped.

Kuna klassikaliste standardite kibedus ei korreleerunud kaeras ja hernes tajutud kibedusega, siis tuleks kibeduse hindamisel standardeid valides silmas pidada nende sobivust antud tootegrupile (missuguseid kibeda võtmeühendeid hinnatav toode sisaldab). Kibeduse sensoorsel hindamisel tuleb paneeliliikmeid valida vastavalt assessorite kibeduse tundlikkusele spetsiifiliste ühendite suhtes.

Nii sensoorse analüüsi paneeli kui ka tarbijate seas tajuti hernes kibedust intensiivsemalt kui kaeras. Segatoiduliste ja taimetoiduliste vahel ei esinenud erinevust kibeduse tajumises. Kaera kibeduse suhtes tundlikke inimesi on vähe. Tarbijate kibeduse tajumise seisukohalt oleks taimsete arendustes paremaks tooraine valikuks kaer, kuna populatsiooni seas tajutakse seda vähem kibedana. Samal ajal on kaer toormaterjalina probleemsem, kuna kaera tunnetus võib väga palju erineda ning see muudab ka keerukamaks kaeratoodete sensoorse analüüsi, kuna eeldab kontrollitumat paneelivalikut. Füsioloogiline võimekus kaera kibedust tajuda on eelduseks kaeratoodete sensoorse kibeduse analüüsimisel.

Kokkuvõte

Lõputöö eesmärk oli määrata kaeras ja hernes olevate kibedust põhjustavate ühendite sisaldust ja uurida, kuidas tajutakse kaeras ja hernes olevat kibedust sensoorselt. Kaera- ja hernetoodete kibeduse tajumist uuriti nii treenitud sensoorse analüüsi paneeli kui ka populatsiooni seas. Treenitud paneeli puhul vaadeldi nii kaera- ja hernetoodete kibeduse tundlikkust kui ka levinud standardühendite tundlikkust ning võrreldi neid omavahel. Populatsiooni seas oli eesmärgiks võrrelda kaera ja herne kibeduse tundlikkuse erinevust ning uurida, kas taimtoiduliste ja segatoiduliste inimeste vahel leidub erinevusi kibeduse tajumises.

Katse treenitud assessoritega näitas, et kaerajahu kibedust tajuti intensiivsemalt kui kaeravalgu kibedust ning kaerajahu sisaldas enam alfa-linoleenhapet ja linoolhapet, samas kui kaeravalk sisaldas enam avenakosiid A-d. Kaerajahu kibedus seostus eeskätt alfa-linoleenhappe kibedusega ning vähemal määral linoolhappe kibedusega. Hernevalgu kibedust tajuti intensiivsemana kui hernejahu intensiivsust ning hernevalk sisaldas enam alfa-linoleenhapet ja linoolhapet, kuid vähem DDMP saponiini kui hernejahu. Hernes tajutav kibedus ei seostunud rasvhapete kibedusega ega saponiinide sisaldusega toodetes. Sensoorne analüüs näitas, et klassikaliste standardite kibeduse tajumine varieerub vähem kui kaeras ja hernes olev kibedus ning rasvhapete kibedus. Klassikaliste standardite kibedus ei korreleerunud kaera- ja hernetoodetes oleva kibedusega, mistõttu ei ole nende kasutamine standarditena kaera ja herne kibeduse sensoorsel kirjeldamisel otstarbekas. Kibeduse sensoorsel analüüsil paneeli koosseisu valides on oluline arvesse võtta assessorite võimekust tajuda kibedaid ühendeid, mida hinnatavad tooted sisaldavad ning standardühendite valikul tuleks lähtuda sellest, milliseid ühendeid analüüsivad proovid sisaldavad. Nii analüüs treenitud assessoritega kui ka tarbijauuring näitasid, et hernes olevat kibedust tajuti tugevamalt kui kaeras olevat kibedust, kuid seost tootumisharjumuste ning kibeduse tundlikkuse vahel populatsiooni seas ei esinenud.

Autor hindab tööle seatud eesmärgid täidetuks, kuid leiab, et töö edasiarenduse võimalusi on mitmeid. Järgmiseks sammuks võiks olla hernes leiduvate trihüdroksüoktadateenhapete ja kaeras olevate monoglütseriidide sisalduse määramise meetodikate arendus, mis võimaldaks saada täielikuma pildi kibeda ühenditest kaeras ja hernes. Samuti oleks huvipakkuv puhaste ühendite sensoorse taju uurimine, kui nende kättesaadavus paraneb. Saadud tulemusi oleks võimalik valideerida, kaasates enam proove. Taimsete alternatiivtoodete arendusi silmas pidades on palju muid tooraineid, mis on tootjatele ja tarbijatele atraktiivsed, kuid mille puhul esineb samuti probleeme kibedusega ning mille kibeda ühendeid ei ole nii põhjalikult uuritud. Saadud töö tulemused annavad arusaamise, millele tuleks rohkem tähelepanu pöörata taimsete valkude sensoorse kibeduse kirjeldamisel.

Tänuavaldused

Autor soovib tänada oma juhendajaid Helen Vaikmat ja Anastassia Bljahhinat heade nõuannete, kannatlikkuse ja julgustamise eest. Samuti soovib autor tänada Sirli Rosenvaldi, kelle eestvedamise ja suunitluste toel valmis publikatsioon, mille põhjal on käesolev lõputöö kirjutatud. Autor soovib tänada Aleksei Kaledat abi eest statistiliste analüüside teostamisel ning Kristiina Loiti, kes teostas instrumentaalanalüüsi koostöös Anastassia Bljahhinaga. Samuti soovib autor avaldada tänu Toidu- ja Fermentatsioonitehnoloogia Arenduskeskuse sensoorse analüüsi paneelile eksperimendis osalemise eest.

Käesolev uurimistöö valmis publikatsiooni põhjal, mille valmimist toetasid rahaliselt Euroopa Regionaalarengu Fond ja Teadusnõukogu projekti RESTA16 kaudu.

Kasutatud kirjandus

- Adamberg, K., Jaagura, M., Aaspõllu, A., Nurk, E., & Adamberg, S. (2020). The composition of faecal microbiota is related to the amount and variety of dietary fibres. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 71(7), 845–855. <https://doi.org/10.1080/09637486.2020.1727864>
- Aliani, M., & Eskin, N. A. M. (Neason A. M. (2017). *Bitterness : perception, chemistry and food processing*. IFT Press : Wiley Blackwell.
- Andres-Barquin, P. J., & Conte, C. (2004). Molecular basis of bitter taste: the T2R family of G protein-coupled receptors. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 41(1), 99–112. <https://doi.org/10.1385/CBB:41:1:099>
- Bartoshuk, L. M. (1979). Bitter Taste of Saccharin Related to the Genetic Ability to Taste the Bitter Substance 6-n-Propylthiouracil. *Science*, 205(4409), 934–935. <https://doi.org/10.1126/science.472717>
- Bartoshuk, L. M., Duffy, V. B., & Miller, I. J. (1994). PTC/PROP tasting: Anatomy, psychophysics, and sex effects. *Physiology & Behavior*, 56(6), 1165–1171. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90361-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90361-1)
- Battaglia Richi, E., Baumer, B., Conrad, B., Darioli, R., Schmid, A., & Keller, U. (2015). Health Risks Associated with Meat Consumption: A Review of Epidemiological Studies. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 85(1–2), 70–78. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26780279>
- Bljahhina, A., Pismennõi, D., Kriščiunaite, T., Kuhtinskaja, M., & Kobrin, E.-G. (2023). Quantitative Analysis of Oat (*Avena sativa* L.) and Pea (*Pisum sativum* L.) Saponins in Plant-Based Food Products by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Coupled with Mass Spectrometry. *Foods* (Vol. 12, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/foods12050991>
- Bonke, A., Sieuwerts, S., & Petersen, I. L. (2020). Amino Acid Composition of Novel Plant Drinks from Oat, Lentil and Pea. *Foods* (Vol. 9, Issue 4). <https://doi.org/10.3390/foods9040429>
- Boxer, E. E., & Garneau, N. L. (2015). Rare haplotypes of the gene TAS2R38 confer bitter taste sensitivity in humans. *SpringerPlus*, 4(1), 505. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1277-z>
- Boz, H. (2015). Phenolic Amides (Avenanthramides) in Oats - A review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33, 399–404. <https://doi.org/10.17221/696/2014-CJFS>
- Brissard, L. (2018). *Mechanisms of gustatory perception of dietary lipids : cross-talk with bitter taste and endocannabinoid receptors*. (Doktoritöö, Université Bourgogne Franche-Comté)
- Bryant, C. J. (2022). Plant-based animal product alternatives are healthier and more environmentally sustainable than animal products. *Future Foods*, 6, 100174. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100174>

- Choi, S. E., & Chan, J. (2015). Relationship of 6-n-propylthiouracil taste intensity and chili pepper use with body mass index, energy intake, and fat intake within an ethnically diverse population. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(3), 389–396. <https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.09.001>
- Cliceri, D., Spinelli, S., Dinnella, C., Prescott, J., & Monteleone, E. (2018). The influence of psychological traits, beliefs and taste responsiveness on implicit attitudes toward plant- and animal-based dishes among vegetarians, flexitarians and omnivores. *Food Quality and Preference*, 68, 276–291. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.020>
- Correa, M., Hutchinson, I., Laing, D. G., & Jinks, A. L. (2013). Changes in fungiform papillae density during development in humans. *Chemical Senses*, 38(6), 519–527. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjt022>
- Dahl, W. J., Foster, L. M., & Tyler, R. T. (2012). Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S3–S10. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000852>
- Delompré, T., Guichard, E., Briand, L., & Salles, C. (2019). Taste Perception of Nutrients Found in Nutritional Supplements: A Review. *Nutrients*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/nu11092050>
- Dinehart, M. E., Hayes, J. E., Bartoshuk, L. M., Lanier, S. L., & Duffy, V. B. (2006). Bitter taste markers explain variability in vegetable sweetness, bitterness, and intake. *Physiology & Behavior*, 87(2), 304–313. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.10.018>
- Drewnowski, A. (2001). The Science and Complexity of Bitter Taste. *Nutrition Reviews*, 59(6), 163–169. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2001.tb07007.x>
- Drewnowski, A., Henderson, S. A., & Cockcroft, J. E. (2007). Genetic Sensitivity to 6-N-Propylthiouracil Has No Influence on Dietary Patterns, Body Mass Indexes, or Plasma Lipid Profiles of Women. *Journal of the American Dietetic Association*, 107(8), 1340–1348. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2007.05.013>
- Dsamou, M., Palicki, O., Septier, C., Chabanet, C., Lucchi, G., Ducoroy, P., Chagnon, M.-C., & Morzel, M. (2012). Salivary Protein Profiles and Sensitivity to the Bitter Taste of Caffeine. *Chemical Senses*, 37(1), 87–95. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr070>
- Duffy, V. B., Hayes, J. E., & Sharafi, M. (2020). Interactions between retronasal olfaction and taste influence vegetable liking and consumption: A psychophysical investigation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100044. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2020.100044>
- El Khoury, D., Cuda, C., Luhovyy, B. L., & Anderson, G. H. (2012). Beta glucan: health benefits in obesity and metabolic syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 851362. <https://doi.org/10.1155/2012/851362>
- FAO. (2022). *Thinking about the future of food safety - A foresight report*. <https://doi.org/10.4060/cb8667en> (13.05.2023)

Fricke, K., & Schieberle, P. (2020). Characterization of the Key Aroma Compounds in a Commercial Milk Chocolate by Application of the Sensomics Approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 12086–12095. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05787>

Gaigbe-Togbe, V., Bassarsky, L., Gu, D., Thomas, S., & Zeifman, L. (2022). *World Population Prospects 2022*. United Nations: Department of Economic and Social Affairs. https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/wpp2022_summary_of_results.pdf

GFI. *Plant-based meat for a growing world*. <https://gfi.org/resource/environmental-impact-of-meat-vs-plant-based-meat/> (14.05.2023)

Gläser, P., Dawid, C., Meister, S., Bader-Mittermaier, S., Schott, M., Eisner, P., & Hofmann, T. (2020). Molecularization of Bitter Off-Taste Compounds in Pea-Protein Isolates (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(38), 10374–10387. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06663>

Gläser, P., Mittermeier-Kleßinger, V. K., Spaccasassi, A., Hofmann, T., & Dawid, C. (2021). Quantification and Bitter Taste Contribution of Lipids and Their Oxidation Products in Pea-Protein Isolates (*Pisum sativum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(31), 8768–8776. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02889>

Gunter, C. (2023). *Polymorphism*. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Polymorphism#:~:text=Polymorphism%2C%20as%20related%20to%20genomics,nucleotide%20polymorphism%2C%20or%20SNP> (14.05.2023)

Günther-Jordanland, K., Dawid, C., Dietz, M., & Hofmann, T. (2016). Key Phytochemicals Contributing to the Bitter Off-Taste of Oat (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(51), 9639–9652. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04995>

Günther-Jordanland, K., Dawid, C., & Hofmann, T. (2020). Quantitation and Taste Contribution of Sensory Active Molecules in Oat (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(37), 10097–10108. <https://doi.org/https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.0c04022>

Hahn, J. D., Chung, T. K., & Baker, D. H. (1990). Nutritive value of oat flour and oat bran. *Journal of Animal Science*, 68(12), 4253–4260. <https://doi.org/10.2527/1990.68124253x>

Hall, M. J., Bartoshuk, L. M., Cain, W. S., & Stevens, J. C. (1975). PTC taste blindness and the taste of caffeine. *Nature*, 253(5491), 442–443. <https://doi.org/10.1038/253442a0>

Hayes, J. E., Bartoshuk, L. M., Kidd, J. R., & Duffy, V. B. (2008). Supertasting and PROP Bitterness Depends on More Than the TAS2R38 Gene. *Chemical Senses*, 33(3), 255–265. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjm084>

Hayes, J. E., Feeney, E. L., & Allen, A. L. (2013). Do polymorphisms in chemosensory genes matter for human ingestive behavior? *Food Quality and Preference*, 30(2), 202–216. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.05.013>

- Heiniö, R. L., Noort, M. W. J., Katina, K., Alam, S. A., Sozer, N., de Kock, H. L., Hersleth, M., & Poutanen, K. (2016). Sensory characteristics of wholegrain and bran-rich cereal foods – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 47, 25–38.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.11.002>
- Heinze, J. M., Preissl, H., Fritsche, A., & Frank, S. (2015). Controversies in fat perception. *Physiology & Behavior*, 152, 479–493.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.08.033>
- Heng, L. (2005). Flavour aspects of pea and its protein preparations in relation to novel protein foods. (Doktoritöö, Wageningen University)
- Heng, L., Vincken, J.-P., van Koningsveld, G., Legger, A., Gruppen, H., van Boekel, T., Roozen, J., & Voragen, F. (2006). Bitterness of saponins and their content in dry peas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(8), 1225–1231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.2473>
- ISO. (2011). *ISO 3972:2011. Method of investigating sensitivity of taste*.
<https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3972:ed-3:v1:en> (13.05.2023)
- Jalil Mozhdehi, F., Abeywickrema, S., Bremer, P. J., & Peng, M. (2021). Comparing Taste Detection Thresholds across Individuals Following Vegan, Vegetarian, or Omnivore Diets. *Foods* (Vol. 10, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/foods10112704>
- Keast, R. S. J., & Breslin, P. A. S. (2003). An overview of binary taste–taste interactions. *Food Quality and Preference*, 14(2), 111–124. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(02\)00110-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0950-3293(02)00110-6)
- Kobue-Lekalake, R. I., Taylor, J. R. N., & de Kock, H. L. (2012). Application of the dual attribute time-intensity (DATI) sensory method to the temporal measurement of bitterness and astringency in sorghum. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(3), 459–466.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02862.x>
- Kumar, P., Chatli, M. K., Mehta, N., Singh, P., Malav, O. P., & Verma, A. K. (2017). Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(5), 923–932.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2014.939739?journalCode=bfsn20>
- Kurek, M. A., Onopiuk, A., Pogorzelska-Nowicka, E., Szpicer, A., Zalewska, M., & Pótorak, A. (2022). Novel Protein Sources for Applications in Meat-Alternative Products—Insight and Challenges. *Foods*, 11(7), 957. <https://doi.org/10.3390/foods11070957>
- Laffitte, A., Neiers, F., & Briand, L. (2016). *Characterization of taste compounds: chemical structures and sensory properties*. Flavour: From Food to Perception. New York: John Wiley & Sons
- Lainer, J., Dawid, C., Dunkel, A., Gläser, P., & Hofmann, T. (2020). Characterization of Bitter Tasting Oxylipins in Poppy Seeds (*Papaver somniferum* L.). *J. Agric. Food Chem.*
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.9b06655>

- Landry, J., & Delhaye, S. (1997). Tryptophan Contents of Pea and Broad Bean Seeds as a Function of Nitrogen Content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(10), 3855–3858. <https://doi.org/10.1021/jf970107e>
- Li, D., & Zhang, J. (2014). Diet shapes the evolution of the vertebrate bitter taste receptor gene repertoire. *Molecular Biology and Evolution*, 31(2), 303–309. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst219>
- Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Durick, K., Zoller, M., & Adler, E. (2002). Human receptors for sweet and umami taste. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(7), 4692–4696. <https://doi.org/10.1073/pnas.072090199>
- Liman, E. R., Zhang, Y. V., & Montell, C. (2014). Peripheral Coding of Taste. *Neuron*, 81(5), 984–1000. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.022>
- Lipchock, S. V., Mennella, J. A., Spielman, A. I., & Reed, D. R. (2013). Human bitter perception correlates with bitter receptor messenger RNA expression in taste cells. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 98(4), 1136–1143. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.066688>
- Lipchock, S. V., Spielman, A. I., Mennella, J. A., Mansfield, C. J., Hwang, L.-D., Douglas, J. E., & Reed, D. R. (2017). Caffeine Bitterness is Related to Daily Caffeine Intake and Bitter Receptor mRNA Abundance in Human Taste Tissue. *Perception*, 46(3–4), 245–256. <https://doi.org/10.1177/0301006616686098>
- Melis, M., Atzori, E., Cabras, S., Zonza, A., Calò, C., Muroli, P., Nieddu, M., Padiglia, A., Sogos, V., Tepper, B. J., & Tomassini Barbarossa, I. (2013). The gustin (CA6) gene polymorphism, rs2274333 (A/G), as a mechanistic link between PROP tasting and fungiform taste papilla density and maintenance. *PLoS One*, 8(9), e74151. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074151>
- Meyerhof, W., Batram, C., Kuhn, C., Brockhoff, A., Chudoba, E., Bufe, B., Appendino, G., & Behrens, M. (2010). The Molecular Receptive Ranges of Human TAS2R Bitter Taste Receptors. *Chemical Senses*, 35(2), 157–170. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjp092>
- Michon, C., O’Sullivan, M. G., Delahunty, C. M., & Kerry, J. P. (2009). The investigation of gender-related sensitivity differences in food perception. *Journal of Sensory Studies*, 24(6), 922–937. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2009.00245.x>
- Mitchell, T., Kumar, P., Reddy, T., Wood, K. D., Knight, J., Assimos, D. G., & Holmes, R. P. (2019). Dietary oxalate and kidney stone formation. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 316(3), F409–F413. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00373.2018>
- Mozuraityte, R., Kristinova, V., & Rustad, T. (2016). *Oxidation of Food Components* (B. Caballero, P. M. Finglas, & F. B. T.-E. of F. and H. Toldrá (eds.); pp. 186–190). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00508-0>
- Munjoma, N., Lennon, S., Goshawk, J., Vissers, H., Isaac, G., Mullard, G., Lai, S., Gethings, L. A., & Plumb, R. S. (2021). *Achieving comprehensive lipid profiling with a CCS, retention time and MS/MS*

library. <https://www.waters.com/nextgen/ee/en/library/application-notes/2021/achieving-comprehensive-lipid-profiling-with-a-ccs-retention-time-and-ms-ms-library.html> (10.05.2023)

Mura, E., Yagi, M., Yokota, K., Seto, E., Matsumiya, K., Matsumura, Y., & Hayashi, Y. (2018). Tolerance of bitter stimuli and attenuation/accumulation of their bitterness in humans. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(9), 1539–1549. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1484273>

National Center for Biotechnology Information. *Phenylthiourea*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phenylthiourea> (13.05.2023)

National Human Genome Research Institute. (2023). *Pseudogene*. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Pseudogene#:~:text=A%20pseudogene%20is%20a%20segment,over%20the%20course%20of%20evolution> (14.05.2023)

National Library of Medicine. (2022). *Propylthiouracil (PTU)*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549828/> (14.05.2023)

Neyraud, E. (2014). Role of saliva in oral food perception. *Monographs in Oral Science*, 24, 61–70. <https://doi.org/10.1159/000358789>

Neyraud, E., Cabaret, S., Brignot, H., Chabanet, C., Labouré, H., Guichard, E., & Berdeaux, O. (2017). The basal free fatty acid concentration in human saliva is related to salivary lipolytic activity. *Scientific Reports*, 7(1), 5969. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06418-2>

Nissim, I., Dagan-Wiener, A., & Niv, M. Y. (2017). The taste of toxicity: A quantitative analysis of bitter and toxic molecules. *IUBMB Life*, 69(12), 938–946. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/iub.1694>

Nolden, A. A., McGeary, J. E., & Hayes, J. E. (2020). Predominant Qualities Evoked by Quinine, Sucrose, and Capsaicin Associate With PROP Bitterness, but not TAS2R38 Genotype. *Chemical Senses*, 45(5), 383–390. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjaa028>

Ozdener, M. H., Subramaniam, S., Sundaresan, S., Sery, O., Hashimoto, T., Asakawa, Y., Besnard, P., Abumrad, N. A., & Khan, N. A. (2014). CD36- and GPR120-Mediated Ca²⁺ Signaling in Human Taste Bud Cells Mediates Differential Responses to Fatty Acids and Is Altered in Obese Mice. *Gastroenterology*, 146(4), 995-1005.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.006>

Rochfort, S., & Panozzo, J. (2007). Phytochemicals for Health, the Role of Pulses. *J. Agric. Food Chem.*, 55(20), 7981.

Rodgers, S., Busch, J., Peters, H., & Christ-Hazelhof, E. (2005). Building a Tree of Knowledge: Analysis of Bitter Molecules. *Chemical Senses*, 30(7), 547–557. <https://doi.org/10.1093/chemse/bji048>

Romano, R., Brockhoff, P. B., Hersleth, M., Tomic, O., & Næs, T. (2008). Correcting for different use of the scale and the need for further analysis of individual differences in sensory analysis.

Food Quality and Preference, 19(2), 197–209.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.06.008>

Roura, E., Aldayyani, A., Thavaraj, P., Prakash, S., Greenway, D., Thomas, W. G., Meyerhof, W., Roudnitzky, N., & Foster, S. R. (2015). Variability in Human Bitter Taste Sensitivity to Chemically Diverse Compounds Can Be Accounted for by Differential TAS2R Activation. *Chemical Senses*, 40(6), 427–435. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjv024>

Sadiq Butt, M., Tahir-Nadeem, M., Khan, M. K. I., Shabir, R., & Butt, M. S. (2008). Oat: unique among the cereals. *European Journal of Nutrition*, 47(2), 68–79. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-0698-7>

Schoenlechner, R., Siebenhandl, S., & Berghofer, E. (2008). 7 - *Pseudocereals*. In E. K. Arendt & F. B. T.-G.-F. C. P. and B. Dal Bello (Eds.), *Food Science and Technology* (pp. 149–VI). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-012373739-7.50009-5>

Serkissian, M. (2019). *Seven of the Biggest Problems Facing Fish in Our Oceans*. *Marine Conservation Institute*. <https://marine-conservation.org/on-the-tide/seven-of-the-biggest-problems-facing-fish-in-our-oceans/> (16.05.2023)

Sha, L., & Xiong, Y. L. (2020). Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 51–61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.022>

Shen, Y., Kennedy, O. B., & Methven, L. (2016). Exploring the effects of genotypical and phenotypical variations in bitter taste sensitivity on perception, liking and intake of brassica vegetables in the UK. *Food Quality and Preference*, 50, 71–81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.01.005>

Shizukuda, S., Marchini, J. S., Adell, A., Santos, M. A., Brandao, C. F. C., Lima, C. M. M., Cunha, S. F. C., Itikawa, E. N., & Silvah, J. H. (2018). Influences of weight, age, gender, genetics, diseases, and ethnicity on bitterness perception: a narrative review of current methodological aspects. *Nutrire*, 43(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s41110-018-0069-y>

Shuntang, G. (2018). Current Topics in Saponins and the Bitter Taste. *Research in Medical & Engineering Sciences*, 5(1), 1–2. <https://doi.org/10.31031/rmes.2018.05.000601>

Solms, J. (1969). Taste of amino acids, peptides, and proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(4), 686–688. <https://doi.org/10.1021/jf60164a016>

Sterna, V., Zute, S., & Brunava, L. (2016). Oat Grain Composition and its Nutrition Benefice. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 8, 252–256. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.02.100>

Tervise Arengu Instituut. (2020). Tegelik ja soovitusliku toidupüramiidi võrdlus. <https://www.tai.ee/et/valjaanded/tegeliku-ja-soovitusliku-toidupuramiidi-vordlus> (12.05.2023)

- Thomas, E., Puget, S., Valentin, D., & Songer, P. (2017). *Chapter 18 - Sensory Evaluation—Profiling and Preferences* (B. B. T.-T. C. and S. of C. Folmer (ed.); pp. 419–456). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00018-9>
- Vaikma, H., Metsoja, G., Bljaghina, A., & Rosenvald, S. (2022). Individual differences in sensitivity to bitterness focusing on oat and pea preparations. *Future Foods*, 6, 100206.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100206>
- Voigt, N., Stein, J., Galindo, M. M., Dunkel, A., Raguse, J.-D., Meyerhof, W., Hofmann, T., & Behrens, M. (2014). The role of lipolysis in human orosensory fat perception. *Journal of Lipid Research*, 55(5), 870–882. <https://doi.org/10.1194/jlr.M046029>
- Vrzal, T., & Olšovská, J. (2019). Sensomics - basic principles and practice. *Kvasny Prumysl*, 65, 166–173. <https://doi.org/10.18832/kp2019.65.166>
- Wieczorek, M. N., Walczak, M., Skrzypczak-Zielińska, M., & Jeleń, H. H. (2018). Bitter taste of Brassica vegetables: The role of genetic factors, receptors, isothiocyanates, glucosinolates, and flavor context. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(18), 3130–3140.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1353478>
- Wink, M. (2016). *Alkaloids: Properties and Determination* (B. Caballero, P. M. Finglas, & F. B. T.-E. of F. and H. Toldrá (eds.); pp. 97–105). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00019-2>
- Yang, J., Wang, P., Wu, W., Zhao, Y., Idehen, E., & Sang, S. (2016). Steroidal Saponins in Oat Bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(7), 1549–1556.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b06071>

Lisad

Lisa 1 – Sensorse analüüsi hindamisleht

Soovitatav on proovi topsis enne hindamist natuke segada, mõnedel proovidel võib olla sadet.

Proovide hindamise ajal kasutada ninaklambrit. Maitsmisjärgselt proov välja sülitada.

Maitsmisel oodata umbes 60 sekundit ning seejärel anda proovile hinnang.

Proovide vahepeal võta lonks vett ja soovi korral küpsiseid/pirni, et puhastada oma suud enne järgmise proovi hindamist.

Proovi nr: sample_code

Kibeduse intensiivsus

Puudub



Lisakommentaariid

Lisa 2 – Tarbijakatse hindamisleht

Kõik vesilahuses olevad proovid tuleb enne maistmist hoolikalt segada topsi raputades!!!
Veendu, et segu muutub ühtlaseks ja sadet pole põhjas.

Proovi number: {{sample_code}}

KIBEDA/MÕRU TUNNETUS

Maitsmisel oodata umbes 60 sekundit ja seejärel anda proovile hinnang. Hinnata tuleb maksimaalset kibedust/mõrusust, mida selle aja jooksul tunni.

Valmis olles käivita taimer vajutades noolt.



Kibeduse/mõru intensiivsus*

Puudub

Ülimalt tugev



Lisakommentaariid:

Lisa 3 – Rasvhapete analüüsil kasutatud gradientelueerimise parameetrid

Aeg (min)	Voolukiirus, ml/min	Eluent A, %	Eluent B, %
0	0,35	50	50
0,5	0,35	50	50
8	0,35	20	80
8,57	0,35	20	80
11,43	0,35	1	99
12	0,35	1	99
13	0,35	50	50

Lisa 4 – Sensorse analüüsi andmed

Assessor	Hernejahu	Hernevalk	Kaerajahu	Kaeravalk	α -linoleenhape	Linoolhape	L-trüptofaan	Kiniin	Kofeiin
1	6,5±0,7	7,0±1,4	8,0±0,0	6,5±0,7	8,5±0,7	9,0±0,0	5,5±0,7	4,5±1,9	3,0±1,4
2	4,5±0,7	6,5±0,7	7,0±1,4	1,5±0,7	6,5±2,1	8,0±0,0	7,0±1,4	7,3±0,5	5,5±0,7
3	6,0±0,0	6,5±0,7	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	1,0±0,0	9,0±0,0	2,3±1,0	6,0±4,2
4	7,0±0,0	8,0±0,0	3,0±0,0	4,5±3,5	1,0±1,4	3,0±1,4	7,5±0,7	4,8±0,5	6,5±2,1
5	7,5±0,7	9,0±0,0	2,0±0,0	1,0±0,0	0,5±0,7	1,0±0,0	8,0±1,4	4,8±1,7	5,5±2,1
6	6,5±0,7	8,0±0,0	1,0±0,0	1,5±0,7	1,0±0,0	3,0±0,0	7,5±0,7	6,5±1,3	1,5±0,7
7	4,5±0,7	5,5±0,7	5,0±1,4	2,0±1,4	6,0±0,0	7,0±0,0	6,0±1,4	2,8±2,2	6,5±2,1
8	1,5±0,7	4,0±1,4	4,5±3,5	2,0±1,4	2,5±0,7	4,0±0,0	8,5±0,7	7,8±1,5	5,5±3,5
9	8,0±1,4	8,0±1,4	3,0±0,0	1,5±0,7	1,0±0,0	1,0±1,4	6,0±1,4	6,0±1,4	4,5±0,7
10	5,5±0,7	8,5±0,7	4,0±1,4	2,5±0,7	3,0±1,4	6,0±1,4	5,5±3,5	4,8±1,5	3,0±1,4
11	3,5±0,7	5,5±0,7	0,0±0,0	0,5±0,7	5,0±0,0	8,5±0,7	7,0±0,0	3,8±1,9	6,0±1,4
12	3,5±2,1	6,0±0,0	1,5±2,1	1,0±0,0	1,5±0,7	3,5±2,1	2,0±0,0	3,0±0,8	3,0±0,0

Lisa 5 – Tarbijakatse andmed

	Kaerajahu	Hernejahu
Omnivoor, fleksitaarlane	2,2 ± 2,1	4,7 ± 2,7
Vegan, vegetaarlane	1,9 ± 1,8	4,0 ± 2,4
Kokku	2,1 ± 2,0	4,4 ± 2,6

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina Grete Metsoja

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Kibedust põhjustavate ühendite sensoorne ja instrumentaalne analüüs kaeras ja hernes,

mille juhendaja on Helen Vaikma ja kaasjuhendaja Anastassia Bljahhina,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

23.05.2023 (kuupäev)

¹ Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loomingulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsevale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtjaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.