

RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, PAWEŁ M. PISULEWSKI

**WPŁYW PROCESÓW TERMICZNYCH I BIOLOGICZNYCH NA
POJEMNOŚĆ PRZECIWUTLENIAJĄCĄ NASION FASOLI
(*PHASEOLUS VULGARIS* L.)**

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu wybranych procesów termicznych i biologicznych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.).

Spośród procesów termicznych zastosowano: (a) trzy warianty moczenia: w wodzie, w 0,1% roztworze kwasu cytrynowego i 0,07% roztworze węglaanu sodu (wszystkie procesy w warunkach zmieniającej się temperatury: 100°C-22°C/2 h), (b) gotowanie przez 60 min, (c) autoklawowanie pod ciśnieniem 1 atm w temp. 121°C przez 15 i 30 min oraz (d) pole mikrofalowe 1300 i 2000 J/g. Spośród procesów biologicznych zastosowano: (a) fermentację na podłożu stałym przy użyciu szczepu *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* sp-T3 i (b) kiełkowanie (1-5 dni).

W porównaniu z nasionami suchymi, zastosowane procesy termiczne (z wyjątkiem gotowania) oraz biologiczne (z wyjątkiem czwartego i piątego dnia kiełkowania) nie miały istotnego wpływu ($P>0,05$) na zawartość polifenoli w tych nasionach. Zastosowane procesy termiczne oraz proces fermentacji, w porównaniu z materiałem wyjściowym, nie miały istotnego wpływu ($P>0,05$) na aktywność przeciwutleniającą (RSA%) tych nasion. Proces kiełkowania (czwarty i piąty dzień) prowadził do istotnego wzrostu ($P<0,05$) potencjału przeciwutleniającego nasion fasoli. W obrębie zastosowanych zabiegów (termicznych oraz biologicznych) wystąpiła dodatnia korelacja pomiędzy zawartością polifenoli i pojemnością przeciwutleniającą nasion fasoli różnych odmian. Odmiana Małopolanka (nasiona czerwone), charakteryzowała się najwyższą zawartością polifenoli i najwyższą aktywnością przeciwutleniającą. Proces kiełkowania nasion 'Małopolanki' może być prostą metodą uzyskiwania produktu funkcjonalnego, charakteryzującego się podwyższonym potencjałem przeciwutleniającym.

Słowa kluczowe: fasola, polifenole, procesy termiczne, procesy biologiczne, potencjał przeciwutleniający

Wprowadzenie

Nasiona fasoli są cennym źródłem składników odżywczych i nieodżywczych [12, 28], a systematyczne spożycie tych nasion jest wskazane ze względu na ich korzystne oddziaływanie na organizm człowieka. Do ważnych funkcjonalnych właściwości

Dr inż. R. Bieżanowska-Kopeć, prof. dr hab. P. M. Pisulewski, Katedra Żywności Człowieka, Wydz. Technologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, tel. (012) 662 48 18, e-mail: rkopec@op.pl

omawianych nasion należy niewątpliwie ich aktywność przeciwutleniająca [3, 4, 7, 17, 30, 39, 40, 41]. W efekcie, spożycie nasion roślin strączkowych jest postrzegane jako czynnik zapobiegający m.in. miażdżycy naczyń [8] i chorobom nowotworowym [13, 22, 23, 32, 33, 35, 36, 37]. Potencjał przeciwutleniający nasion roślin strączkowych wynika z reguły z zawartości polifenoli [5, 16, 18, 39, 43]. Związki te, będąc naturalnymi przeciwutleniaczami [14, 23, 31, 35], chronią organizm człowieka przed reaktywnymi formami tlenu, odpowiadającymi za reakcje będące podłożem wspomnianych chorób chronicznych [14, 22, 36]. Ochronne właściwości polifenoli omówili ostatnio Lambert i wsp. [29] oraz Zern i Fernandez [44].

Przygotowanie nasion roślin strączkowych do spożycia wymaga zastosowania bądź klasycznych procesów hydrotermicznych [15, 19, 25], bądź nietermicznych, w tym biologicznych [24, 27]. Procesy te mogą jednak prowadzić do eliminacji składników nieodżywczych, m.in. polifenoli [1, 2, 10, 19], a tym samym utraty aktywności przeciwutleniającej nasion roślin strączkowych.

W tym kontekście, celem niniejszej pracy była ocena wpływu wybranych procesów termicznych i biologicznych na zawartość polifenoli i aktywność przeciwutleniającą nasion czterech polskich odmian fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.): Polanki, Longiny, Igołomskiej i Małopolanki.

Materiał i metody badań

Materiał badawczy stanowiły nasiona czterech polskich odmian fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.): Polanka, Longina, Igołomska i Małopolanka (pochodzące z Przedsiębiorstwa Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego „Polan” w Krakowie). Nasiona fasoli, zaopatrzone w odpowiednie świadectwa pochodzenia, były kwalifikowane jako materiał przedbazowy „PB”, dawniej określany jako super elita.

Suche nasiona badanych odmian traktowano jako próbę kontrolną. Następnie prowadzono procesy termiczne: (a) trzy warianty moczenia nasion metodą skróconą „na gorąco” (100°C-22°C/2 h), według Waszkiewicz-Robak [42], tj. nasiona zalewano wodą o temp. 100°C (proporcja wody do nasion 4:1) i pozostawiano je w temp. pokojowej przez ok. 2 h (bez podgrzewania), uzyskując końcową temp. moczenia ok. 22°C), Proces moczenia prowadzono w wodzie; w 0,1 % roztworze kwasu cytrynowego; w 0,07% roztworze węgla sodu (b) moczenie [42] i gotowanie przez 60 min w warunkach normalnego ciśnienia, z zachowaniem proporcji wody do nasion 2,5:1, (c) moczenie [42] i autoklawowanie pod ciśnieniem 1 atm. w temp 121°C przez 15 oraz 30 min oraz (d) moczenie [42] i mikrofalowanie (Panasonic Dimension 4), przy dawce energii: 1300 i 2000 J/g nasion.

Fermentację nasion prowadzono przy użyciu szczepu pleśni *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* sp-T3, pochodzącego z Institute for Microbial Resources z Tajwanu. Namnażanie szczepu pleśni prowadzono na wysterylizowanych w autoklawie (1 kg/cm²; 60 min) ziemniakach, które następnie inkubowano z *inoculum* w

termostacie (temp. 30°C) przez 2 dni. Fermentacja nasion obejmowała: moczenie fasoli „na gorąco” (100°C-22°C/2 h) według Waszkiewicz-Robak [42], gotowanie (60 min), chłodzenie do temp. pokojowej (~25°C); zaszczepienie namnożonym *inoculum* w ilości 40×10⁶ spor/200 g mokrych nasion. Proces fermentacji fasoli prowadzono w termostacie (35°C/24 h), po czym materiał poddawano sterylizacji (100°C/10 min).

Przed kiełkowaniem nasiona fasoli sterylizowano w 95% etanolu przez 1 min, następnie moczone w wodzie destylowanej (30 min, temp. pokojowa) i układano pomiędzy warstwy wilgotnej bibuły. Tak przygotowane nasiona poddawano kiełkowaniu w termostacie (temp. 28°C) bez dostępu światła. Kiełkujące nasiona zbierano codziennie przez kolejne 5 dni.

Po każdym przeprowadzonym procesie nasiona fasoli zamrażano (-20°C), liofilizowano i mielono. Materiał przechowywano w hermetycznie zamkniętych pojemnikach do czasu analiz.

Polifenole ekstrahowano z 0,5 g prób materiału z 25 ml 80% alkoholu etylowego pod chłodnicą zwrotną (temp. wrzenia, przez 30 min). Ekstrakt wirowano przy 1500 g przez 20 min, a supernatant zachowywano. Sumę polifenoli oznaczano metodą Swain i Hillis [38] z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). Do 5 ml ekstraktu (rozcieńczonego alkoholem etylowym 1:10, v/v) dodawano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteu'a (rozcieńczonego wodą 1:1, v/v) i 0,5 ml 25% roztworu Na₂CO₃. Mieszaninę pozostawiano na 15 min w temp. pokojowej. Absorbancję supernatantu odczytywano przy 760 nm. Stężenie polifenoli wyrażano w ekwiwalentach (±)katechiny (mg/g s.m.). Pojemność przeciwutleniającą oznaczano metodą Branda-Williamsa i wsp. [9] z zastosowaniem trwałego wolnego rodnika DPPH• tj. 1,1-dwufenylo-2-pikrylhydrazyl (90%, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Germany). Ekstrakt przygotowywano jak do oznaczania fenoli. Pobierano 1,0 ml ekstraktu etanolowego analizowanych próbek i uzupełniano do 1,5 ml 80% alkoholem etylowym. Przygotowany ekstrakt łączono z 3 ml roztworu DPPH• (4 mg DPPH• w 100 ml 96% etanolu), dokładnie mieszano i odczytywano ekstynkcję wobec etanolu za pomocą spektrofotometru SEMCO S91E przy 516 nm po 0 i 10 min.

Pojemność przeciwutleniającą RSA [%] (ang. *radical scavenging activity*) tj. zdolność wygaszania wolnego rodnika DPPH•, obliczano według wzoru:

$$RSA = \frac{Abs_{516}(0) - Abs_{516}(10)}{Abs_{516}(0)} \times 100$$

gdzie:

Abs₅₁₆(0) – absorbancja odczytana w czasie 0 min,

Abs₅₁₆(10) – absorbancja odczytana po 10 min.

Analizę zawartości polifenoli oraz aktywność przeciwutleniającą każdej próby wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki analiz badanych odmian fasoli poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu pakietu Statistica 6.1. Istotność

różnic pomiędzy efektami zastosowanych procesów oceniono przy użyciu testu *post-hoc* Duncana na poziomie istotności $P < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość polifenoli (tab. 1) w suchych nasionach fasoli białej kształtowała się na zbliżonym poziomie (od 1,54 w 'Longinie' do 1,83 mg/g s.m. w 'Polance'). Natomiast w fasoli czerwonej ('Małopolanka') poziom tych związków był istotnie ($P < 0,05$) wyższy (4,15 mg/g s.m.). Analogicznie, ekstrakty uzyskane z fasoli białej wykazywały niższą aktywność przeciwutleniającą (RSA%) (od 33,08% – 'Polanka' do 60,73% – 'Igołomska') w porównaniu z fasolą czerwoną (83,57%). Stwierdzono również wysoką korelację ($r = 0,79$) pomiędzy badanymi parametrami (tab. 3). Powyższa zawartość polifenoli w suchych nasionach, z uwzględnieniem dużo wyższych ilości w 'Małopolance' (nasiona czerwone), nie różniła się od wartości podawanych w literaturze [2, 11, 18, 34, 39, 45]. Wysoka zawartość polifenoli w nasionach fasoli była skorelowana z ich właściwościami przeciwutleniającymi. Do podobnych wniosków doszły Drużyńska i Klepacka [18]. Tę zależność analizowali także Amarowicz i Troszyńska [6], wskazując na wysoką zawartość polifenoli (głównie wielkocząsteczkowych tanin) i aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z nasion fasoli czerwonej.

W poniższej charakterystyce wpływu badanych zabiegów termicznych i biologicznych, obserwowane zmiany zawartości polifenoli i pojemności przeciwutleniającej nasion fasoli (RSA%) odnoszono do analogicznych parametrów nasion suchych. Jednocześnie, w poszczególnych zabiegach oceniano korelacje pomiędzy kierunkami zmian zawartości polifenoli i aktywności antyrodnikowej nasion (RSA%).

Moczenie fasoli w wodzie nie wpływało istotnie ($P > 0,05$) na obniżenie zawartości polifenoli w nasionach, jak również RSA% (tab. 1). Środowisko wody zwiększa straty składników chemicznych, dlatego rozpatrując poszczególne odmiany w stosunku do materiału wyjściowego, stwierdzono straty zawartości polifenoli od 5,8% (odmiana Longina) do 39,5% (odmiana Małopolanka). Ponadto podczas moczenia nasion „na gorąco” mogło dojść do utlenienia polifenoli przez enzym polifenolooksydazę. Podobne rezultaty, wynikające z przechodzenia polifenoli do roztworu, zaobserwowali w swych badaniach Alonso i wsp. [2]. Potencjał przeciwutleniający badanych odmian fasoli był nieznacznie niższy, w porównaniu z materiałem wyjściowym, wyjątek stanowiła fasola odmiany Polanka, w której stwierdzono wyższą aktywność przeciwutleniającą (+40,4%). Jak podaje Gumul i wsp. [20], zmniejszeniu zawartości naturalnych przeciwutleniaczy w produkcie może towarzyszyć zwiększenie ich aktywności przeciwutleniającej, ze względu na łatwiejszą dostępność pozostałych przeciwutleniaczy. Pomiędzy analizowanymi

zmianami zawartości polifenoli a RSA% zachowana została wysoka korelacja ($r = 0,98$).

Tabela 1

Zawartość polifenoli i pojemność przeciwutleniająca nasion fasoli poddanych procesom termicznym.
Effect of thermal processing on total polyphenols and antioxidant activity of common bean seeds.

| Proces technologiczny Technological process | | Odmiana fasoli Cultivar | Zawartość polifenoli mg/g s.m. Polyphenols [mg catechin/g d.m.] | RSA%*(radical scavenging activity) | | |
|---|--|----------------------------|--|------------------------------------|----------------|-----------|
| Próba kontrolna (nasiona suche) Control sample (dry seeds) | | Polanka | 1,83 ± 0,02 b | 2,27* bc | 33,08 ± 1,65 a | 56,75* ab |
| | | Longina | 1,54 ± 0,01 a | | 49,61 ± 0,32 b | |
| | | Igołomska | 1,57 ± 0,00 a | | 60,73 ± 2,22 c | |
| | | Małopolanka | 4,15 ± 0,01 c | | 83,57 ± 1,05 d | |
| Moczenie Soaking | w wodzie in water | Polanka | 1,19 ± 0,02 | 1,59* ab | 46,43 ± 2,01 | 54,81* ab |
| | | Longina | 1,45 ± 0,01 | | 46,66 ± 1,25 | |
| | | Igołomska | 1,19 ± 0,01 | | 47,26 ± 0,03 | |
| | | Małopolanka | 2,51 ± 0,03 | | 78,90 ± 1,64 | |
| | w roztworze kw. cytrynowego 0,1% in 0,1% citric acid | Polanka | 2,42 ± 0,00 | 2,24* bc | 36,95 ± 2,39 | 58,90* ab |
| | | Longina | 1,76 ± 0,02 | | 65,56 ± 1,84 | |
| | | Igołomska | 1,66 ± 0,01 | | 47,09 ± 1,03 | |
| | | Małopolanka | 3,10 ± 0,01 | | 85,99 ± 3,17 | |
| | w roztworze węglaanu sodu 0,07% in 0,07% sodium carbonate | Polanka | 2,09 ± 0,01 | 1,91* abc | 62,06 ± 1,46 | 65,98* ab |
| | | Longina | 1,37 ± 0,03 | | 47,99 ± 1,28 | |
| | | Igołomska | 1,37 ± 0,02 | | 65,60 ± 0,93 | |
| | | Małopolanka | 2,79 ± 0,02 | | 88,27 ± 0,72 | |
| Autoklawowanie Autoclaving | 15 min | Polanka | 1,37 ± 0,01 | 1,60* ab | 59,70 ± 2,65 | 66,31* ab |
| | | Longina | 1,17 ± 0,01 | | 74,00 ± 0,07 | |
| | | Igołomska | 1,22 ± 0,00 | | 46,47 ± 2,56 | |
| | | Małopolanka | 2,64 ± 0,02 | | 85,06 ± 3,62 | |
| | 30 min | Polanka | 1,28 ± 0,01 | 1,59* ab | 63,18 ± 2,61 | 65,16* ab |
| | | Longina | 1,29 ± 0,00 | | 68,51 ± 2,14 | |
| | | Igołomska | 1,22 ± 0,02 | | 45,00 ± 1,28 | |
| | | Małopolanka | 2,57 ± 0,01 | | 83,95 ± 0,94 | |
| Pole mikrofalowe | 1300 J/g | Polanka | 1,33 ± 0,01 | 1,47* ab | 66,12 ± 0,74 | 68,82* ab |
| | | Longina | 1,35 ± 0,01 | | 64,51 ± 2,88 | |

cd. Tab. 1.

| | | | | | | | |
|----------------------|----------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-----------|
| Microwave treatment | | Igołomska | 1,26 ± 0,03 | | 59,92 ± 2,23 | | |
| | | Małopolanka | 1,95 ± 0,02 | | 84,71 ± 1,74 | | |
| | 2000 J/g | | Polanka | 1,28 ± 0,02 | 1,39* ab | 46,84 ± 2,55 | 57,98* ab |
| | | | Longina | 1,33 ± 0,00 | | 52,25 ± 1,04 | |
| | | | Igołomska | 1,27 ± 0,01 | | 44,46 ± 1,06 | |
| | | | Małopolanka | 1,68 ± 0,01 | | 88,38 ± 1,82 | |
| Gotowanie Cooking | 60 min | Polanka | 0,97 ± 0,02 | 1,31* a | 47,51 ± 1,24 | 55,85* ab | |
| | | Longina | 1,29 ± 0,03 | | 64,68 ± 1,62 | | |
| | | Igołomska | 1,08 ± 0,01 | | 61,63 ± 1,07 | | |
| | | Małopolanka | 1,91 ± 0,00 | | 69,57 ± 2,34 | | |

Objaśnienia: / Explanatory notes:

RSA%* - potencjał przeciwutleniający 1 ml ekstraktu nasion fasoli / antioxidant activity of 1 ml extract of common bean seeds,

a, b, c, d - wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0,05$ / mean values in the same columns bearing different letters are significantly statistically different at the level $P < 0,05$,

± SEM – błąd odchylenia standardowego / the standard error,

* - wartości średnie odnoszące się do 4 badanych odmian fasoli / mean values for 4 studied bean seeds

Nasiona fasoli moczonej w 0,1% roztworze kwasu cytrynowego zawierały porównywalną ilość polifenoli i tym samym porównywalny potencjał przeciwutleniający, w odniesieniu do próby kontrolnej ($P > 0,05$). W porównaniu z nasionami moczonymi w wodzie, odnotowano wyższą zawartość polifenoli, co można tłumaczyć tym, że dodatek 0,1% kwasu cytrynowego do wody utwardza warstwy powierzchniowe nasion, zmniejszając tym samym przechodzenie tych składników do roztworu. Pojemność przeciwutleniająca w obrębie poszczególnych odmian fasoli była zarówno wyższa (o 32,2% w ‘Longinie’), niższa (o 22,4% w ‘Igołomskiej’), jak również porównywalna (w ‘Polance’ i ‘Małopolance’) z nasionami suchymi. Różnice odmianowe wpłynęły na stosunkowo niską korelację ($r = 0,53$) pomiędzy zawartością polifenoli a RSA%. W nasionach czerwonej fasoli ‘Małopolanka’ zawartość polifenoli była niższa o 25%, w porównaniu z próbą kontrolną, niemniej pojemność przeciwutleniająca została zachowana. W literaturze przedmiotu nie napotkano analogicznych badań dotyczących wpływu moczenia w środowisku kwasowym na zawartość polifenoli w nasionach roślin strączkowych.

Tabela 2

Zawartość polifenoli i potencjał przeciwutleniający nasion fasoli poddanych procesom biologicznym.
Effect of non-thermal processing on total polyphenols and antioxidant activity of common beans.

| Proces technologiczny Technological process | | Odmiana fasoli Cultivars | Zawartość polifenoli [mg/g s.m.] Polyphenols [mg catechin/g d.m.] | RSA%*(radical scavenging activity) | | |
|---|------------------|-----------------------------|--|------------------------------------|----------------|----------|
| Próba kontrolna (nasiona suche) Control sample (dry seeds) | | Polanka | 1,83 ± 0,02 b | 2,27*bc | 33,08 ± 2,65 a | 56,75*ab |
| | | Longina | 1,54 ± 0,01 a | | 49,61 ± 0,32 b | |
| | | Igołomska | 1,57 ± 0,00 a | | 60,73 ± 3,22 c | |
| | | Małopolanka | 4,15 ± 0,01 c | | 83,57 ± 1,05 d | |
| Fermentacja z <i>Rhizopus oligosporus</i> sp-T3 Fermentation with <i>Rhizopus oligosporus</i> sp-T3 | | Polanka | 2,73 ± 0,02 | 2,77*bc | 43,52 ± 1,98 | 45,92*a |
| | | Longina | 2,13 ± 0,05 | | 37,29 ± 1,35 | |
| | | Igołomska | 2,96 ± 0,01 | | 38,19 ± 2,06 | |
| | | Małopolanka | 3,26 ± 0,01 | | 64,67 ± 4,21 | |
| Kiełkowanie Germination | 1 dzień 1 day | Polanka | 1,98 ± 0,02 | 2,40*bc | 65,60 ± 2,03 | 69,98*bc |
| | | Longina | 1,57 ± 0,00 | | 61,40 ± 0,43 | |
| | | Igołomska | 1,71 ± 0,02 | | 58,89 ± 3,12 | |
| | | Małopolanka | 4,35 ± 0,01 | | 94,02 ± 3,01 | |
| | 2 dni 2 days | Polanka | 2,41 ± 0,02 | 2,72*bc | 72,67 ± 1,85 | 75,56*bc |
| | | Longina | 1,74 ± 0,02 | | 66,77 ± 0,96 | |
| | | Igołomska | 2,11 ± 0,01 | | 67,69 ± 2,34 | |
| | | Małopolanka | 4,64 ± 0,00 | | 95,11 ± 2,63 | |
| | 3 dni 3 days | Polanka | 2,59 ± 0,01 | 2,82*bc | 80,75 ± 2,54 | 80,18*bc |
| | | Longina | 1,82 ± 0,01 | | 72,62 ± 1,83 | |
| | | Igołomska | 2,15 ± 0,01 | | 73,17 ± 2,09 | |
| | | Małopolanka | 4,73 ± 0,01 | | 94,16 ± 4,11 | |
| | 4 dni 4 days | Polanka | 2,80 ± 0,00 | 2,90*c | 88,99 ± 0,92 | 81,70*c |
| | | Longina | 1,81 ± 0,02 | | 71,33 ± 0,75 | |
| | | Igołomska | 2,51 ± 0,03 | | 74,89 ± 3,32 | |
| | | Małopolanka | 4,49 ± 0,01 | | 91,57 ± 1,96 | |
| | 5 dni 5 days | Polanka | 3,04 ± 0,01 | 2,95*c | 91,99 ± 5,02 | 81,32*c |
| | | Longina | 1,91 ± 0,01 | | 70,28 ± 1,82 | |
| | | Igołomska | 2,70 ± 0,01 | | 70,98 ± 1,26 | |
| | | Małopolanka | 4,16 ± 0,03 | | 92,03 ± 2,07 | |

Objaśnienia: /Explanatory notes:

RSA%* - aktywność przeciwutleniająca 1 ml ekstraktu nasion fasoli / antioxidant activity of 1 ml extract of common bean seeds,

a, b, c, d - wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0,05$ / mean values in the same columns bearing different letters are significantly statistically different at the level $P < 0,05$,

± SEM – błąd odchylenia standardowego / the standard error,

* - wartości średnie odnoszące się do 4 badanych odmian fasoli / mean values for 4 studied bean seeds.

Tabela 3

Współczynniki korelacji pomiędzy zawartością polifenoli a pojemność przeciwutleniająca nasion fasoli.
Correlation coefficient between total polyphenols and antioxidant activity of common bean seeds.

| Proces technologiczny Technological process | | Współczynnik korelacji Correlation coefficient |
|--|---|---|
| Próba kontrolna (nasiona suche) Control sample (dry seeds) | | r = 0,791 |
| Moczenie Soaking | w wodzie in water | r = 0,979 |
| | w roztworze kw. cytrynowego 0,1% in 0,1% citric acid | r = 0,531 |
| | w roztworze węglaanu sodu 0,07% in 0,07% sodiumcarbonate | r = 0,846 |
| Autoklawowanie Autoclaving | 15 min | r = 0,717 |
| | 30 min | r = 0,808 |
| Pole mikrofalowe Microwave treatment | 1300 J/g | r = 0,989 |
| | 2000 J/g | r = 0,997 |
| Gotowanie Cooking | 60 min | r = 0,797 |
| Fermentacja z <i>Rhizopus oligosporus</i> sp-T3 Fermentation with <i>Rhizopus oligosporus</i> sp-T3 | | r = 0,726 |
| Kiełkowanie Germination | 1 dzień / 1 day | r = 0,994 |
| | 2 dni / 2 days | r = 0,996 |
| | 3 dni / 3 days | r = 0,984 |
| | 4 dni / 4 days | r = 0,842 |
| | 5 dni / 5 days | r = 0,809 |

Proces moczenia fasoli w 0,07% roztworze węglaanu sodowego nie wpływał istotnie na zawartość związków polifenolowych ($P > 0,05$). Niższa zawartość tych składników w ramach poszczególnych odmian, w porównaniu z nasionami suchymi, nie wpłynęła ujemnie na zdolność wiązania wolnego rodnika DPPH[•]. RSA% fasoli był porównywalny z materiałem wyjściowym (wyjątek stanowiła fasola odmiany Polanka). Jednocześnie zachowana została wysoka korelacja ($r = 0,85$) pomiędzy badanymi parametrami. Wcześniej nie prowadzono analogicznych badań.

Autoklawowanie fasoli w czasie 15 i 30 min wpłynęło na zmniejszenie zawartości polifenoli oraz wyższy poziom RSA%. Różnice te nie były jednak statystycznie istotne ($P > 0,05$). W ramach poszczególnych odmian największe straty polifenoli stwierdzono w przypadku 'Małopolanki' (odpowiednio -36,4% i -38,1%), natomiast najwyższym

pojemnością przeciwutleniającą, w porównaniu z materiałem wyjściowym, charakteryzowała się 'Polanka' i 'Longina', najniższym 'Igołomska'. W 'Małopolance' nie wykazano znacznych różnic. Niezależnie od tych zmian, zachowana została wysoka korelacja (odpowiednio $r = 0,72$ i $r = 0,81$) pomiędzy zawartością polifenoli a pojemnością przeciwutleniającą nasion fasoli. Podczas ogrzewania produktu gorącym powietrzem, pomimo stosowania wyższej temperatury w porównaniu z tradycyjnym gotowaniem, straty spowodowane utlenianiem przeciwutleniaczy są mniejsze. Jak podaje Grajek [21], jest to wynikiem zwykle dużo niższej temperatury wewnątrz produktu niż jego warstw powierzchniowych.

Po zastosowaniu pola mikrofalowego o natężeniu 1300 i 2000 J/g nie obserwowano istotnie mniejszej ($P > 0,05$) zawartości polifenoli w nasionach fasoli. Jednakże największe straty tego składnika, w porównaniu z materiałem wyjściowym, stwierdzono w przypadku fasoli odmiany Małopolanka tj. -53,0% i -59,5%, odpowiednio przy dawkach energii 1300 J/g i 2000 J/g, co może wynikać z odparowania niektórych przeciwutleniaczy. Zaskakująco, pojemność przeciwutleniająca nasion przyjmował wartości zbliżone do nasion suchych. Jednocześnie stwierdzono, że pole mikrofalowe o niższym natężeniu (1300 J/g), w ramach poszczególnych odmian, zwiększyło pojemność przeciwutleniającą nasion fasoli: 'Polanka' i 'Longina', lecz nie miało wpływu w przypadku pozostałych odmian. Zastosowanie wyższego natężenia pola mikrofalowego (2000 J/g) wpłynęło na wyższe wartości RSA% nasion fasoli, w porównaniu z próbą kontrolną (wyjątek stanowiła 'Igołomska'). Podobnie jak wyżej, po procesie mikrofalowania nasion przy 1300 i 2000 J/g, zachowana została wysoka korelacja (odpowiednio $r = 0,99$ i $r = 1$) pomiędzy badanymi parametrami. Według Grajka [22], utlenianie cząsteczek przeciwutleniaczy i ich inaktywacja podczas procesu mikrofalowania spowodowana jest wysokim stężeniem rodników lipidowych na skutek zmniejszonej zawartości wody w produkcie i odsłonięciem polimerów ułatwiających dotarcie do nich cząsteczek tlenu. W reakcji utleniania fenole przechodzą w nieaktywne chinony.

Proces gotowania fasoli wpływał na istotną redukcję związków polifenolowych ($P < 0,05$), natomiast pojemność przeciwutleniająca była porównywalna z materiałem wyjściowym. Najmniejszą zawartość polifenoli uzyskano w 'Polance' i 'Małopolance' (odpowiednio -47 i -54%). Długotrwałe gotowanie wpływa na duże straty przeciwutleniaczy, co jest wynikiem ekstrakcji tych związków do środowiska wodnego oraz rozkładu termicznego zachodzącego równomiernie w całej objętości produktu. Poszczególne odmiany fasoli wykazały zarówno niższą, jak i wyższą aktywność przeciwutleniającą. Najwyższym wzrostem pojemności przeciwutleniającej charakteryzowała się fasola odmiany Polanka (o 43,6%), a najniższym odmiany Małopolanka. W fasoli czerwonej 'Małopolanka' proces gotowania wpłynął na mniejszą zawartość polifenoli o 54%, a RSA% o 17%, w stosunku do nasion suchych. Jednocześnie zachowana została wysoka korelacja ($r = 0,80$) pomiędzy badanymi

parametrami. W podobnych badaniach Bressani i Elias [10] stwierdzili, że proces gotowania może usunąć z fasoli od 30 do 40% polifenoli.

W przypadku procesu fermentacji nie wykazano istotnie większej zawartości polifenoli ($P > 0,05$), w porównaniu z nasionami suchymi. W ramach poszczególnych odmian największą zawartość tego składnika, w stosunku do próby kontrolnej, stwierdzono w przypadku 'Igołomskiej' (o 88,5%), natomiast w przypadku 'Małopolanki' obserwowano mniejszą jego ilość (o 21%). Proces fermentacji (tab. 2) nie wpłynął istotnie na niższą pojemnością przeciwutleniającą nasion fasoli ($P > 0,05$). Niemniej, zachowana została wysoka korelacja ($r = 0,73$) pomiędzy badanymi parametrami. W przypadku 'Małopolanki' stwierdzono zarówno mniejszą zawartość polifenoli, jak również RSA%. Jak podają Amarowicz i Troszyńska [6], związkami fenolowymi aktywnymi w ekstrakcie z nasion fasoli czerwonej są fenolokwasy (*p*-kumarowy, ferulowy, sinapowy), flawonole (kwercetyna, kempferol), proantocyjanidyny (procyjanidyny B₂ i B₃) oraz cyjanidyna. Związki fenolowe obecne we frakcji taninowej odznaczały się wielokrotnie wyższą aktywnością przeciwutleniającą, w stosunku do frakcji niskocząsteczkowych polifenoli. Zatem, w przypadku czerwonej fasoli odmiany Małopolanka, efekt procesu fermentacji obserwowany w badaniach własnych wynikał prawdopodobnie z redukcji frakcji taninowej obecnej w nasionach tej odmiany. Zawartość polifenoli w nasionach fasoli poddanych procesowi fermentacji była statystycznie wyższa ($P < 0,05$), w porównaniu z zawartością tego składnika w nasionach gotowanych, natomiast RSA% nie różnił się istotnie po przeprowadzeniu omawianych zabiegów. Ujemny wpływ procesu fermentacji na zdolność wygaszania wolnego rodnika DPPH[•], w porównaniu z nasionami gotowanymi, wynikał zatem z zachodzących zmian enzymatycznych.

Proces kiełkowania podwyższał istotnie ($P < 0,05$) zawartość polifenoli oraz pojemność przeciwutleniającą badanych nasion (czwarty i piąty dzień). Zawartość polifenoli zwiększała się z każdym dniem kiełkowania, w porównaniu z próbą kontrolną, uzyskując najwyższy poziom w piątym dniu, a w przypadku 'Małopolanki' w czwartym dniu procesu. Kiełkowanie nasion, w porównaniu z procesami termicznymi, w większym stopniu oszczędzało związki przeciwutleniające, ponieważ proces ten prowadzony był w umiarkowanej temperaturze i przy ograniczonym dostępie światła i tlenu. Zwiększona aktywność przeciwutleniająca tych nasion była wynikiem hydrolitycznego działania enzymów. Pomiedzy zawartością polifenoli a pojemnością przeciwutleniającą analizowanych nasion fasoli obliczono wysoką korelację, która wynosiła po kolejnych dniach (1-5) kiełkowania odpowiednio: $r = 0,99$, $r = 0,99$, $r = 0,98$, $r = 0,84$, $r = 0,81$. W przypadku 'Małopolanki' najwyższą zdolność wygaszania wolnych rodników stwierdzono po 5 dniach tego procesu.

Zabiegi termiczne lub biologiczne, w ramach poszczególnych odmian fasoli, prowadziły bądź do zmniejszenia, bądź do wzrostu zawartości polifenoli, w porównaniu z nasionami suchymi. Zabiegami zmniejszającymi zawartość polifenoli w

nasionach fasoli były prawie wszystkie zastosowane procesy termiczne; jedynym wyjątkiem był zabieg moczenia nasion w roztworze 0,1% kwasu cytrynowego. Natomiast badane procesy biologiczne zwiększały zawartość tych związków w nasionach fasoli. Zastosowane procesy technologiczne wpływały nie tylko na zawartość fenoli, ale w znacznym stopniu mógł zmienić się także ich skład, co odzwierciedlało się wyższą lub niższą pojemnością przeciwutleniającą. Z tego też względu należałoby określić skład poszczególnych związków fenolowych po każdym przeprowadzonym procesie. Niezależnie od powyższych zmian (porównywanych z nasionami suchymi), w obrębie poszczególnych analizowanych zabiegów termicznych i biologicznych obserwowano powszechnie akceptowaną [5, 6, 16, 39, 43], dodatnią korelację pomiędzy zawartością polifenoli i pojemnością przeciwutleniającą nasion roślin strączkowych.

W przeprowadzonych badaniach wyróżniono fasolę odmiany Małopolanka, o czerwonym zabarwieniu nasion. Odmiana ta charakteryzowała się największą zawartością polifenoli i najwyższą pojemnością przeciwutleniającą. W wyniku kiełkowania nasion tej odmiany stwierdzono zarówno wzrost zawartości polifenoli w nasionach, jak również wzrost RSA% tych nasion. Ta ostatnia obserwacja wskazuje na możliwość wykorzystania procesu kiełkowania nasion fasoli (czerwonej) jako prostej metody uzyskiwania produktu o podwyższonej aktywności przeciwutleniającej.

Zgodnie z wymaganiami stawianym obecnie żywności funkcjonalnej [26], uzyskane wyniki dotyczące zależności pomiędzy procesami przetwórczymi, zawartością składników nieodżywczych (polifenoli) i pojemnością przeciwutleniającą nasion fasoli, winny zostać zweryfikowane w dalszych badaniach, w warunkach *in vivo*.

Wnioski

1. Zastosowane procesy termiczne (z wyjątkiem gotowania) oraz biologiczne (z wyjątkiem czwartego i piątego dnia kiełkowania) nie miały istotnego wpływu ($P > 0,05$) na zawartość polifenoli w nasionach fasoli, w porównaniu z nasionami suchymi.
2. Procesy termiczne oraz proces fermentacji nie miały istotnego wpływu ($P > 0,05$) na pojemność przeciwutleniającą (RSA%) nasion fasoli, w porównaniu z nasionami suchymi.
3. Proces kiełkowania (czwarty i piąty dzień prowadzenia procesu) istotnie zwiększał ($P < 0,05$) pojemność przeciwutleniającą nasion fasoli, w porównaniu z materiałem wyjściowym.
4. W obrębie zastosowanych zabiegów (termicznych oraz biologicznych) wystąpiła dodatnia korelacja pomiędzy zawartością polifenoli i pojemnością przeciwutleniającą nasion fasoli.

5. Spośród badanych odmian fasoli, odmiana Małopolanka (nasiona czerwone) charakteryzowała się największą zawartością polifenoli i najwyższą pojemnością przeciwutleniającą.

Literatura

- [1] Alonso R., Aguirre A., Marzo F.: Effects of extrusion and traditional processing methods on antinutrients and in vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. *Food Chem.*, 2000, **68**, 159-165.
- [2] Alonso R., Grant G., Dewey P., Marzo F.: Nutritional assessment in vitro and in vivo of raw and extruded peas (*Pisum sativum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2286-2290.
- [3] Amarowicz R., Karamać M., Chavan U.: Influence of the extraction procedure on the antioxidative activity of lentil seed extracts in a β -carotene-linoleate model system. *Grasasy Aceites*, 2001, **2**, 89-93.
- [4] Amarowicz R., Karamać M., Kmita-Głazewska H., Troszyńska A., Kozłowska H.: Antioxidant activity of phenolic fractions of everlasting pea, faba bean and broad bean. *J. Food Lipids*, 1996, **3**, 199-211.
- [5] Amarowicz R., Karamać M., Weidner S.: Antioxidant activity of phenolic fraction of pea (*Pisum sativum*). *Czech J. Food Sci.*, 2001, **19**, 139-142.
- [6] Amarowicz R., Troszyńska A.: Aktywność przeciwutleniająca i zdolność redukcyjna ekstraktu z czerwonej fasoli i jego frakcji. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, **2**, 119-124.
- [7] Amarowicz R., Troszyńska A., Karamać M., Kozłowska H.: Antioxidative properties of legume seed extracts. *Proc. of International Conference. Agri-Food'95*, 1996, pp. 376-379.
- [8] Anderson J.W., Major A.W.: Pulses and lipaemia, short- and long-term effect: Potential in the prevention of cardiovascular disease. *Br. J. Nutr.* 2002, **88** (suppl. 3), 263-271.
- [9] Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C.: Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 1995, **28**, 25-30.
- [10] Bressani R., Elias L.G.: The nutritional role of polyphenols. In: *Polyphenols in Cereals and Legumes*, Hulse J.H., Ed., International Development Research Centre, Ottawa, Canada, 1980, p. 61.
- [11] Carbonaro M., Mattera M., Cappelloni M.: Effect of processing on antinutritional compounds of common bean, faba bean, lentil, chickpea and pea. *Proc. of the 4th European Conference on Grain Legumes*, Cracow, AEP (Ed), 2001, pp. 418-419.
- [12] Champ M.M.-J.: Non-nutrient bioactive substances of pulses. *Br. J. Nutr.* 2002, **88** (suppl. 3), 307-319.
- [13] Cooke M.S., Evans M.D., Mistry ZN., Linec J.: Role of dietary antioxidants in the prevention of *in vivo* oxidative DNA damage. *Nutr. Rev.*, 2002, **15**, 19-41.
- [14] Darewicz M., Dziuba J., Panfil T.: Biologicznie aktywne składniki żywności funkcjonalnej w profilaktyce chorób nowotworowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4** (37), 36-47.
- [15] Deshpande S.S., Sathe S.K., Salunkhe D.K.: Soaking. In *CRC Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology and Utilization*, CRS Press, Inc. Florida, 1989, Vol. III, pp. 133-140.
- [16] Drużyńska B.: Fractionation and antioxidant activity of polyphenols isolated from seed coats of brown faba bean. *Proc. of the 4th European Conference on Grain Legumes*, Cracow, AEP (Ed), 2001, p. 410.
- [17] Drużyńska B.: Polyphenolic compounds of bean seed coats (*Phaseolus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2002, **4**, 35-39.
- [18] Drużyńska B., Klepacka M.: Właściwości przeciwutleniające preparatów polifenoli otrzymanych z okrywy nasiennej fasoli czarnej, różowej i białej (*Phaseolus*). *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **4** (41), 69-78.

- [19] Ghorpade V.M., Kadam S.S.: Germination. In CRC Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology, and Utilization, CRS Press, Inc. Florida, 1989, Vol. III, pp. 165-176.
- [20] Gumul D., Korus J., Achremowicz B.: Wpływ procesów przetwórczych na aktywność przeciwutleniającą surowców pochodzenia roślinnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2005, **4** (45) Supl., 41-48
- [21] Grajek W.: Zmiany potencjału przeciwutleniającego surowców roślinnych w procesach przetwórczych i w czasie trawienia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **4** (37), 26-35.
- [22] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszaniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1** (38), 3-11.
- [23] Hollman P.C.H.: Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? *J. Sci. Food Agric.*, 2001, **81**, 842-852.
- [24] Iyer V., Kadam S.S., Salunkhe D.K.: Cooking. CRC Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology and Utilization, CRS Press, Inc. Florida, Vol. III, pp. 141-163.
- [25] Khalil A.H., Mansour E.H.: The effect of cooking, autoclaving and germination on the nutritional quality of faba beans. *Food Chem.*, 1995, **54**, 177-189.
- [26] Kolanowski W.: Żywność funkcjonalna – nowe propozycje. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2005, **2**, 125-131.
- [27] Kuo Y.H., Bau H.M., Quemener B., Khan J.K., Lambein F.: Solid-state fermentation of *Lathyrus sativus* seeds using *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oligosporus* sp T-3 to eliminate the neurotoxin β -ODAP without loss of nutritional value. *J. Sci. Agric.*, 1995, **69**, 81-89.
- [28] Krupa U., Soral-Śmietana M.: Nasiona fasoli – źródłem odżywczych i nieodżywczych makroskładników. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2003, **2** (35), 98-111.
- [29] Lambert J.D., Hong J., Yang G., Liao I., Yang C.S.: Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: evidence from laboratory investigations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2005, **81**, 284-291.
- [30] Leterme P.: Recommendations by health organizations for pulse consumption. *Br. J. Nutr.* 2002, **88** (suppl. 3), 239-242.
- [31] Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L.: Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clinical Nutrition*, 2004, **79** (5), 727-747.
- [32] Manach C., Mazur A., Scalbert A.: Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Curr. Opin. Lipidol.*, 2005, **16**, 77-84.
- [33] Mathers J.C.: Pulses and carcinogenesis: potential for the prevention of colon, breast and other cancers. *Br. J. Nutr.* 2002, **88** (suppl. 3), 273-279.
- [34] Mikołajczak A., Drużyńska B.: Antyoksydacyjne właściwości polifenoli okryw nasiennych fasoli kolorowej. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 1999, **3**, 112-117.
- [35] Nijveldt R.J., van. Nood E., van. Hoorn D.E.C., Boelens P.G., van. Norren K., van. Leeuwen P.A.M.: Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, **74**, 418-425.
- [36] Robak J., Zachwieja Z.: Rola polifenoli zawartych w diecie w profilaktyce schorzeń. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1999, **32** (3), 215-220.
- [37] Sies H., Stahl W., Sevanian A.: Nutritional, dietary and Postprandial Oxidative Stress. *J. Nutr.*, 2005, **135**, 969-972.
- [38] Swain T., Hillis W.E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **10**, 63-68.
- [39] Troszyńska A., Bednarska A., Łatosz A., Kozłowska H.: Polyphenolic compounds in the seed coat of legume seeds. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1997, **3**, 37-45.
- [40] Troszyńska A., Kubicka E.: Superoxide scavenging activity of seed coat extracts from legume seeds. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2001, **4**, 55-59.

- [41] Tsaliki E., Lagouri V., Doxastakis G.: Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*). *Food Chem.*, 1999, **65**, 71-75.
- [42] Waszkiewicz-Robak B.: Możliwości skrócenia czasu trwania obróbki kulinarnej nasion soi i innych roślin strączkowych. *Biuletyn IHAR*, 1996, **198**, 171-177.
- [43] Wołosiak R.: Pea and bean albumins as antioxidants in linoleic acid model system. *Proc. of the 4th European Conference on Grain Legumes*, Cracow, AEP (Ed), 2001, pp. 404-405.
- [44] Zern T.L., Fernandez M.L.: Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J. Nutr.*, 2005, **135**, 2291-2294.
- [45] Zduńczyk Z.: Przeciwdrożdzywe i/lub prozdrowotne właściwości wtórnych metabolitów roślin. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2001, **4 (29)**, 150-163.

THE EFFECT OF THERMAL AND BIOLOGICAL PROCESSING ON ANTIOXIDANT ACTIVITY OF COMMON BEAN SEEDS (*PHASEOLUS VULGARIS* L.)

S u m m a r y

The objectives of this research were to study the effects of several thermal and biological processing methods on the polyphenol content and antioxidant activity of common bean seeds. Among thermal processing three soaking methods were used: (a) in water, 0,1% citric acid, and 0,07% sodium carbonate; all treatments in the temperature ranging from 100°C to 22°C, (b) cooking, (c) autoclaving (1at, 121°C) for 15 and 30 min, and (d) microwave treatment at 1300 and 2000 J/g. The latter processing methods were: (a) solid-state fermentation (using *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* sp-T3) and (b) germination (1-5 days).

As compared to unprocessed (dry) common bean seeds, the thermal treatments (except cooking) and biological treatments (except 4 and 5-day germination) had no effect ($P>0,05$) on the concentrations of polyphenols in the seeds. The thermal treatments and solid-state fermentation had no effect ($P>0,05$) on the antioxidant activity (Radical Scavenging Activity - RSA%) of the seeds. The process of germination (4 and 5 days) led to significant ($P<0,05$) increased antioxidant activity in the seeds. For each separate treatment, both thermal and biological, positive correlation between content of polyphenols and RSA% of the seeds was observed. A red-seed common bean cultivar *Małopolanka* showed highest concentration of polyphenols as well as highest antioxidant activity in the seeds. It is concluded that the process of germination of *Małopolanka* seeds could be considered as a means of development a functional food product (with enhanced antioxidant potential).

Key words: common beans, thermal processing, biological processing, polyphenols, antioxidant activity

