

BEATA DRUŻYŃSKA, MIROSŁAWA KLEPACKA

**WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE PREPARATÓW
POLIFENOLI OTRZYMANYCH Z OKRYWY NASIENNEJ FASOLI
CZARNEJ, RÓŻOWEJ I BIAŁEJ (*PHASEOLUS*)**

Streszczenie

Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli uzyskanych z okrywy nasiennej fasoli czarnej, różowej i białej. Preparaty otrzymano przez ekstrakcję polifenoli 0,5% roztworem HCl w metanolu, zagęszczanie pod próżnią i liofilizację. Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów obejmowała określenie zawartości tanin skondensowanych oraz antocyjanów. Ponadto oznaczono zdolność polifenoli do chelatowania jonów żelaza (II).

Badania właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli obejmowały oznaczanie zdolności preparatów do unieczynniania kationorodników ABTS⁺ oraz rodników wodorotlenowych.

Stwierdzono, że wszystkie badane preparaty wykazywały aktywność przeciwrodnikową zarówno wobec kationorodników ABTS⁺ (od 18 do 28,5%), jak i wobec rodników wodorotlenowych (od 25 do 95%). Największą aktywnością charakteryzowały się preparaty z fasoli czarnej i różowej, natomiast najmniejszą preparat z fasoli białej. Spowodowane to było prawdopodobnie większą zawartością polifenoli, a zwłaszcza tanin skondensowanych w preparatach z okryw fasoli kolorowych.

Słowa kluczowe: polifenole, właściwości przeciwutleniające, kationorodniki ABTS⁺, rodniki wodorotlenowe.

Wstęp

Wolne rodniki są dużym zagrożeniem dla zdrowia, ponieważ są metabolizowane w organizmie człowieka i atakują molekuly czynne biologicznie: białka, kwasy tłuszczowe i nukleinowe. Wynikiem ich działania jest uszkodzenie komórek i tkanek, co prowadzi do wielu chorób i przyspiesza procesy starzenia [6, 16].

Efektom działania wolnych rodników w żywności jest przede wszystkim utlenianie lipidów. Niekorzystnym efektem tego działania sprzyja również produkowanie żywności o długim okresie przydatności do spożycia [4]. Procesom

oksydacyjnym zapobiega się przez dodatek przeciwutleniaczy. W przemyśle spożywczym stosowane są syntetyczne przeciwutleniacze (pochodne fenolu) o dużej skuteczności w powstrzymaniu reakcji utleniania. Ich zastosowanie jest jednak ograniczone ze względu na toksyczność [21]. Spowodowało to, że w ostatnich latach obserwuje się coraz większe zainteresowanie naturalnymi przeciwutleniaczami, które są lepiej akceptowane przez konsumentów i uważane za bardziej bezpieczne.

Największą grupę wśród naturalnych przeciwutleniaczy, bardzo zróżnicowaną pod względem struktury i właściwości, stanowią polifenole. Są to drugorzędowe metabolity rozpowszechnione w świecie roślin, natomiast nie syntetyzowane w organizmach zwierząt [22]. Oddziałują one jako związki unieczynnijące wolne rodniki, tworzą kompleksy z metalami przejściowymi, hamują działanie lipooksygenaz i innych enzymów katalizujących reakcje utleniania [2, 4, 5]. Właściwości przeciwutleniające niektórych polifenoli są dobrze udokumentowane w literaturze. Dotyczy to przede wszystkim herbaty, czerwonego wina i soi [17, 23, 27]. Niewiele jest prac opisujących działanie antyoksydacyjne polifenoli zawartych w krajowych nasionach roślin strączkowych, a szczególnie fasoli.

Celem niniejszej pracy było określenie właściwości przeciwutleniających wybranych polifenoli zawartych w okrywie nasiennej fasoli.

Materiał i metody badań

Materiałem badawczym były preparaty o właściwościach przeciwutleniających otrzymane z okrywy nasiennej fasoli czarnej (Green Mung), różowej (Malinka) i białej (Jaś Tyczny). Nasiona fasoli moczo w wodzie przez 24 godz., a następnie ręcznie obłuszczano. Okrywę suszono w temperaturze $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ i mielono. Polifenole ekstrahowano 0,5% roztworem kwasu solnego w metanolu, wytrząsając przez 24 godz. w temperaturze pokojowej. Otrzymany ekstrakt zagęszczano pod próżnią w temp. 50°C i poddawano liofilizacji [20].

Charakterystyka chemiczna preparatów obejmowała oznaczenie dwóch grup polifenoli: tanin skondensowanych wanilinową metodą Price'a [13] i antocyjanów metodą Sodheimera-Kertesza w modyfikacji Swaina i Hillisa [19]. Zawartość tanin skondensowanych wyrażono w ekwiwalencie (+)katechiny (Fluka) [21].

Badanie zdolności chelatowania jonów żelaza(II) przez polifenole przeprowadzono w wodnych roztworach preparatów polifenoli dodając chlorek żelaza(II) i ferrozynę. Absorbancję barwnego kompleksu mierzono po 10 min od dodania ferrozyny przy długości fali 562 nm, w spektrofotometrze Shimadzu UV-160A [10].

Zdolność preparatów polifenoli do dezaktywacji wolnych rodników badano wytwarzając rodnik ferrylioglobiny z metmioglobiny aktywowanej nadtlakiem wodoru. Rodnik ten w reakcji z syntetycznym substratem generował kationorodniki

ABTS^{•+}. Zawartość tych rodników oznaczano spektrofotometrycznie [11]. Aktywność badanych preparatów obliczano korzystając z krzywej wzorcowej, wykonanej z roztworów Troloxu (analogu α -tokoferolu o zwiększonej rozpuszczalności w wodzie) i zgodnie z danymi literaturowymi wyrażano w jednostkach TEAC (pojemność przeciwutleniająca równoważna Troloxowi, *ang.* Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), czyli jako stężenie Troloxu wykazujące aktywność przeciwutleniającą identyczną z 1 mM roztworem preparatu. Przeciwdrobnikowe właściwości polifenolowych preparatów oznaczano również przez pomiar fluorescencji wywołanej formowaniem rodników wodorotlenowych generowanych z nadtlenu wodoru i benzoesu sodu w obecności jonów miedzi(II) i DTET (ditiocytrytol) w buforze fosforanowym o pH 7,2. DTET stosowano w celu przyspieszenia reakcji rodnikowej. Fluorescencję pochodnych hydroksylowych mierzono spektrofluorymetrycznie [7]. Wszystkie oznaczenia wykonywano w co najmniej trzech powtórzeniach.

Wyniki i dyskusja

W omawianej pracy oznaczono zawartość dwóch grup polifenoli: tanin skondensowanych i antocyjanów. Wyniki przeliczono na zawartość suchej masy i przedstawiono w tab. 1. Zdecydowano się na oznaczenie tych związków, ponieważ według danych literaturowych są to główne grupy polifenoli występujące w fasoli [3].

T a b e l a 1

Zawartość antocyjanów i tanin skondensowanych w preparatach polifenoli.
Content of anthocyanins and condensed tannins in polyphenol preparations.

Preparat Preparation	Antocyjany Anthocyanins	Taniny skondensowane Condensed tannins
	[mg/100 mg s. m.] [% d.m.]	
PFCz	11,6 ($\pm 0,15$) ^{* a^{*1}}	61,2 ($\pm 0,24$) a
PFR	0,7 ($\pm 0,03$) b	29,4 ($\pm 0,37$) b
PFBł	nw ^{*2}	15,3 ($\pm 0,16$) c

* – w nawiasach podano wartości odchyłeń standardowych / standard deviation is given in brackets;

^{*1} – wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi indeksami różnią się statystycznie istotnie między sobą ($\alpha=0,05$) / mean values in the same column, which are denoted by different superscripts, differ statistically significant among each other ($\alpha=0,05$)

^{*2} – nie wykryto / not detected

PFCz – preparat z fasoli czarnej / preparation made of black bean;

PFR – preparat z fasoli różowej, / preparation made of pink bean;

PFBł – preparat z fasoli białej / preparation made of white bean.

We wszystkich preparatach dominowały taniny skondensowane. Najwyższą ich zawartością charakteryzował się preparat z fasoli czarnej (61,2 mg/100 mg), co stanowi aż 90% wszystkich polifenoli w tym preparacie. Zawartość tanin skondensowanych w preparacie z fasoli różowej kształtowała się na poziomie 30 mg/100 mg suchej masy. Preparat z okrywy fasoli białej zawierał najmniej tanin skondensowanych (15,3 mg/100 mg).

Należy jednak zauważyć, że zawartość tanin skondensowanych zależy w dużym stopniu od sposobu ekstrakcji (temperatury, czasu, rodzaju rozpuszczalnika) oraz od odmiany nasion. Według Deshpande i Cheryana [5], zawartość tanin skondensowanych w różnych odmianach fasoli po 6 godz. ekstrakcji w metanolu z dodatkiem 1% HCl waha się w granicach od 26 do 291 mg/ 100 g suchego ziarna. W badanych odmianach (po przeliczeniu otrzymanych wyników na 100 g suchego ziarna) zawartość tanin skondensowanych zawierała się w tych granicach i wynosiła od 32 mg/100 g ziarna w preparacie z okrywy fasoli białej do 114 mg/100 g ziarna w preparacie z fasoli czarnej. Pomimo, że autorzy zajmowali się badaniem całego ziarna, wydaje się, że wyniki te można porównać, gdyż liścienie fasoli, zwłaszcza kolorowej, zawierają niewielką ilość związków polifenolowych [18].

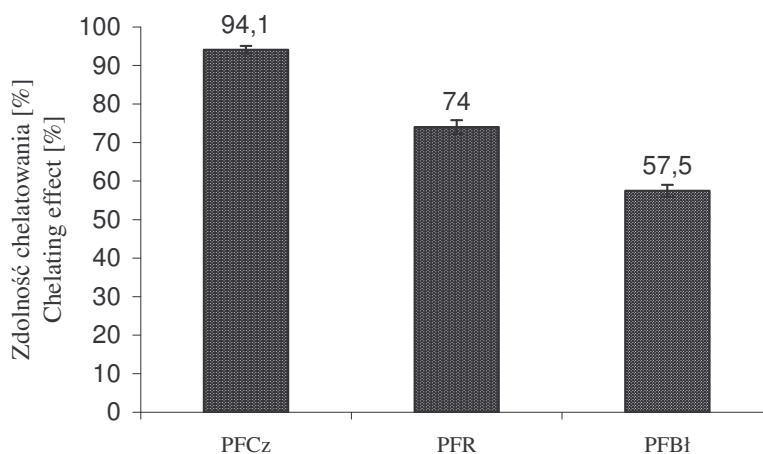
W badanych preparatach dominowały taniny skondensowane. Znajduje to również potwierdzenie w literaturze. Wilska-Jeszka i Stasiak [25], badając różne rośliny strączkowe, także stwierdziły dominację tej grupy związków polifenolowych. Należy jednak zaznaczyć, że zawartość tanin skondensowanych oznaczana metodami chemicznymi może być często obarczona błędem, co spowodowane jest m.in. stopniem polimeryzacji. Należy również zachować dużą ostrożność przy porównywaniu ogólnej zawartości tanin skondensowanych oznaczanych różnymi metodami chemicznymi, przez różnych autorów [24].

Antocyjany w badanych preparatach występowały w zróżnicowanych ilościach. Najwięcej tych polifenoli stwierdzono w preparacie z okrywy nasiennej fasoli czarnej (11,6 mg/100 mg). Takeoka i wsp. [20] badali skład antocyjanów w fasoli czarnej i uzyskali podobną zawartość ogólną tych związków w okrywie (9%), stosując ten sam sposób ekstrakcji. Najmniejszą zawartość antocyjanów, 0,7 mg/100 mg stwierdzono w preparacie z fasoli różowej, co mogło być spowodowane połączeniem tych polifenoli z cukrami. Połączenia takie są niewykrywalne metodą z czerwienią Kongo. Natomiast w preparacie z okrywy fasoli białej w ogóle nie stwierdzono ich obecności. Ma to oczywisty związek z intensywnością zabarwienia okrywy nasiennej.

Analiza statystyczna wykazała, że wyniki pomiędzy poszczególnymi odmianami różniły się istotnie między sobą ($\alpha = 0,05$).

Właściwości wiązania jonów metali grup przejściowych mają bardzo duży wpływ na działanie przeciwutleniające polifenoli, dlatego w pracy wykonano oznaczenie ich zdolności do chelatowania jonów żelaza(II). Wyniki przedstawiono na rys. 1.

Preparaty z okryw fasoli kolorowych charakteryzowały się lepszymi właściwościami chelatującymi niż preparat z okrywy fasoli białej. Wśród dwóch odmian fasoli kolorowych wyższą zdolność do chelatowania jonów żelaza(II) wykazywał preparat z okrywy fasoli czarnej (94%). Być może lepsze właściwości chelatujące preparatów z fasoli kolorowych wynikają z większego udziału w nich tanin skondensowanych. Według niektórych badań, to właśnie te polifenole wykazują najsilniejsze zdolności wiązania jonów metali grup przejściowych [15]. Podobną zależność wykazali Yu i wsp. [27], badając korelację pomiędzy zawartością tanin skondensowanych a zdolnością chelatowania jonów żelaza(II) w otrębach pszennych.



Rys. 1. Zdolność chelatowania jonów żelaza(II) przez preparaty polifenoli.

Fig. 1. Chelating effect of polyphenol preparations on the Fe(II) ions.

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes- see Tab. 1

W pracy stwierdzono korelację pomiędzy występowaniem tanin skondensowanych a zdolnością chelatowania jonów żelaza w przypadku preparatu z fasoli różowej ($r = 0,82$) oraz pomiędzy zawartością tanin skondensowanych a właściwościami chelatującymi w preparacie z okrywy fasoli białej ($r = 0,83$).

Aktywność przeciwutleniającą badanych preparatów oznaczano w metodzie z rodnikami ABTS⁺. Wyniki przedstawiono w tab. 2.

Aktywność badanych preparatów polifenolowych zawierała się w granicach od 0,70 do 0,42 mM Troloxu, przy czym preparaty pochodzące z odmian kolorowych wykazywały większą aktywność przeciwrodnikową niż preparat uzyskany z fasoli białej. Różnice pomiędzy badanymi preparatami z odmian kolorowych były nieznaczne. Omówione powyżej wartości wskazują na niezbyt dużą zdolność preparatów polifenolowych do wiązania kationorodników ABTS⁺. Wniosek taki można sformułować na podstawie danych literaturowych, według których kwas

askorbinowy wykazuje aktywność przeciwrodnikową 0,9 mM, β -karoten – 1,9 mM, a preparaty albuminowe roślin strączkowych w granicach 1,8–2,2 mM [14, 26].

Tabela 2

Aktywność preparatów polifenoli wobec kationorodników ABTS^{•+}.
Antioxidant activity of polyphenol preparations against ABTS^{•+} radicals.

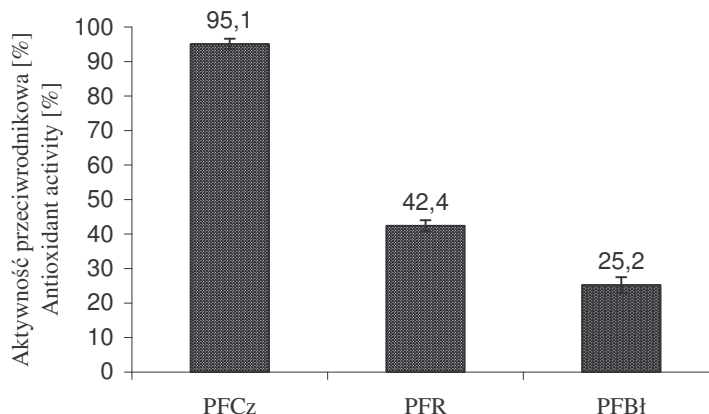
Preparat Preparation	Aktywność przeciwrodnikowa Antioxidant activity	
	TEAC [Mm Trolox]	[%]
PFCz	0,70 (\pm 0,005)*	28,5 (\pm 0,35)
PFR	0,65 (\pm 0,005)	26,2 (\pm 0,23)
PFBł	0,42 (\pm 0,008)	18,2 (\pm 0,40)

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes- see Tab. 1

Kirakosyan i wsp. [9] porównali aktywność poszczególnych wzorcowych roztworów polifenoli z aktywnością etanolowych ekstraktów z owoców głogu. Z badań tych wynika, że preparaty uzyskane z głogu wykazują bardzo duże zdolności do unieczynniania kationorodników ABTS^{•+} (aktywność przeciwrodnikowa rzędu 2,3 mM Troloxu) i o prawie 30% większe niż wolna (-)epikatechina. Autorzy wysuwają hipotezę, że wynik taki sugeruje synergizm poszczególnych polifenoli zawartych w preparacie. Do innych wniosków doszli natomiast Natella i wsp. [12], porównując działanie przeciwrodnikowe niektórych polifenoli pojedynczo i w mieszaninach w różnych układach rodnikowych (w tym także wobec kationorodników ABTS^{•+}). Polifenole badane osobno i w mieszaninach uzyskiwały aktywność podobnego rzędu, a niekiedy (np. w przypadku kwasu cytrynowego i kawowego) w mieszaninie działały nieco słabiej niż pojedynczo. Można to tłumaczyć skomplikowanymi mechanizmami zachodzącymi między poszczególnymi polifenolami, a także między polifenolami a innymi składnikami badanych roztworów.

Omawiając wyniki aktywności przeciwrodnikowej wobec kationorodników ABTS^{•+} trzeba wspomnieć, że trudno jest odnieść wyniki uzyskane w niniejszej pracy do danych zawartych w bogatej na ten temat literaturze, gdyż niektóre badane przez innych autorów preparaty osiągały aktywności powyżej 2,5 mM Troloxu. Związane to było z istotną zmianą w metodyce odnoszącą się do wyboru maksymalnego stężenia standardu powodującego całkowitą dezaktywację rodników.

Rodniki hydroksylowe tworzą się zarówno w organizmach żywych, jak i w żywności i mogą wchodzić w reakcje praktycznie ze wszystkimi jej składnikami. Uznawane są za najbardziej reaktywne twory chemiczne i m.in. mają zdolność do inicjowania procesu autooksydacji lipidów.



Rys. 2. Aktywność preparatów polifenoli wobec rodników wodorotlenowych.

Fig. 2. Antioxidant activity of polyphenol against hydroxyl radicals.

Objaśnienia jak w tab. 1. / Explanatory notes- see Tab. 1.

Na podstawie uzyskanych wyników (rys. 2) można stwierdzić, że podobnie jak w przypadku oznaczania stopnia unieczynniania kationorodników ABTS⁺ większą aktywnością przeciwrodnikową charakteryzowały się preparaty pochodzące z odmian fasoli kolorowych. Największą aktywność obserwowano w preparacie otrzymanym z okrywy nasiennej fasoli czarnej (95%), natomiast najmniejszą w preparacie z fasoli białej (25%). Polifenole zawarte w preparatach wykazywały aktywność przeciwutleniającą wobec rodników hydroksylovych zaraz po zapoczątkowaniu reakcji, a także po 10, 20 i 30 min (tab. 3). Największą aktywność przeciwrodnikową wykazywały preparaty po 30 min reakcji, wyjątek stanowił preparat otrzymany z fasoli czarnej, którego maksymalną aktywność zarejestrowano po 20 min. Z przedstawionych danych wynika, że w pierwszym okresie pomiarów unieczynnianie rodników wodorotlenowych zachodziło w największym stopniu, natomiast w miarę upływu czasu inkubacji reakcje te zachodziły coraz wolniej. Po 30 min. inkubacji próbka bez dodatku preparatu osiągnęła maksymalną wartość fluorescencji. Aktywność przeciwutleniająca po tym czasie spadła, zarówno w przypadku preparatów z fasoli kolorowych, jak i z fasoli białej. Lepsza efektywność preparatów polifenoli pochodzących z fasoli kolorowych wskazuje na możliwość wpływu zdolności chelatowania jonów metali grup przejściowych przez te preparaty, na ich aktywność w zastosowanym w pracy układzie modelowym, ponieważ był on katalizowany przez jony miedzi(II), a podobnie jak w przypadku dezaktywacji rodników wodorotlenowych preparaty z okrywy nasion fasoli kolorowych wykazywały lepsze właściwości chelatujące.

Przeprowadzona analiza statystyczna wyników pozwoliła stwierdzić, że istnieje korelacja pomiędzy zdolnością preparatów do chelatowania jonów metali, a ich właściwościami antyrodnikowymi wobec rodników hydroksylowych. Należy tu jednak zauważyć, że na omawianą korelację mógł wpłynąć fakt, że w doświadczeniu badającym właściwości chelatujące użyto jonów żelaza, a nie jonów miedzi, która katalizowała wytwarzanie rodników wodorotlenowych.

Tabela 3

Zdolność preparatów polifenoli do unieczynniania rodników wodorotlenowych.

The effect of polyphenols on scavenging the hydroxyl radicals by the polyphenol preparations.

Mieszanka reakcyjna Reaction mixture	Fluorescencja w jedn. umownych Fluorescence expressed in conventional units			
	0 min	10 min	20 min	30 min
H ₂ O ₂ /Cu ⁺² /DTET	398,55 (±7,72)*	516,67 (±2,82)	901,87 (±1,31)	1003 (±0,00)
H ₂ O ₂ /Cu ⁺² /DTET + PFCz	36,49 (±5,15)	46,62 (±17,06)	55,74 (±18,23)	49,05 (±17,82)
H ₂ O ₂ /Cu ⁺² /DTET + PFR	280,05 (±6,02)	392,10 (±4,98)	505,52 (±4,74)	578,02 (±8,60)
H ₂ O ₂ /Cu ⁺² /DTET + PFBł	386,32 (±4,28)	478,62 (±6,12)	665,62 (±7,72)	750,50 (±0,83)

Wnioski

1. Wszystkie preparaty polifenoli otrzymane z okrywy nasion fasoli wykazywały właściwości przeciwutleniające w badanych układach modelowych.
2. Preparaty otrzymane z okrywy nasion fasoli czarnej i różowej wykazywały lepszą zdolność do wiązania rodników niż preparat z fasoli białej.
3. Wykazano większą aktywność przeciwutleniającą preparatów z fasoli kolorowej wobec rodników wodorotlenowych w reakcji katalizowanej jonami metali przejściowych, co może mieć związek z ich lepszymi właściwościami chelatującymi.
4. W składzie wszystkich badanych preparatów stwierdzono dominację tanin skondensowanych.

Literatura

- [1] Bacon J.R., Rhodes J.C.: Development of a competition assay for the evaluation of the binding of human parotid salivary proteins to dietary complex phenols and tannins using a peroxidase-labeled tannin. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **46**, 5083-5088.
- [2] Bressani R.: Grain quality of common beans. *Food Rev. Int.*, 1993, **9**, 237-297.
- [3] Chung H.Y., Yokozawa T., Soung D. Y., Kye I.S., No J.K., Baek B.S.: Peroxynitrite-scavenging activity of green tea tannin. *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1998, 4484-4486.
- [4] Deshpande S.S., Cheryan M.: Determination of phenolic compounds of dry beans using vanilin, redox and precipitation assays. *J. Food Sci.*, 1987, **2**, 332-334.
- [5] Gonet B.: Wolne rodniki i antyoksydanty w zdrowiu i chorobie. *Czynniki Ryzyka*, 1996, **11**, 5-13.
- [6] Hunt J.V., Simpson J.A., Dean R.T.: Hydroperoxide-mediated fragmentation of proteins. *Biochem. J.*, 1988, **250**, 87-93.
- [7] Kahkonen M., Hopia A.I., Vuorela H.J., Rauha J-P., Pihlaja K., Kujala T.S., Heinonen M.: Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 3954-3962.
- [8] Kirakosyan A., Seymour E., Kaufman P.B., Warber S., Bolling S., Chang S.C.: Antioxidant capacity of polyphenolic extracts from *Crateagus leavigata* and *Crateagus monogyna* (Hawthorn) subjected to drought and cold stress. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 3973-3976.
- [9] Lai L.S., Chou S.T., Chao W.W.: Studies on the antioxidative activities of Hsian-tsoo leaf gum. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49**, 963-968.
- [10] Miller N.J., Rice-Evans C.A.: Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Report*, 1996, **2**, 161-171.
- [11] Natella F., Nardini M., Di Felice M., Scaccini C.: Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants structure-activity relation. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **47**, 1453-1459.
- [12] Price M.L., van Scoyoc S., Butler L.G.: A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 1978, **26**, 1214-1218.
- [13] Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS^{•+} radical cation decolorization assay. *Free Rad. Biol. Med.*, 1999, **26**, 1231-1237.
- [14] Sanchez-Moreno C., Larrauri J.A., Saura-Calixto F.: A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 1998, **76**, 270-276.
- [15] Sawa T., Nakao M., Akaike T., Ono K.: Alkylperoxyl radical-scavenging activity of various flavonoids and other phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, **47**, 397-402.
- [16] Simonetti P., Pietta P., Testolin G.: Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 1150-1155.
- [17] Stasiak A., Wilska-Jeszka J.: Charakterystyka tanin występujących w nasionach roślin fasoli. *Mat. XXX Sesji Naukowej KTiChŻ PAN. Kraków 1999*, s. 5-9.
- [18] Swain T., Hillis W.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric.*, 1959, **1**, 63-68.
- [19] Takeoka G.R., Dao L. T., Full G. H., Wong R. Y., Harden L.A., Edwards R.H., Berrios J.: Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, **45**, 3395-3400.
- [20] Tsuda T., Ohshima K., Kawakishi S., Osawa T.: Antyoksydacyjne pigmenty izolowane z nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 248-251.
- [21] Wang H., Provan G.J., Helliwell K.: Tea flavonoids: Their functions, utilization and analysis. *T Food Sci. Techn.*, 2000, **11**, 152-160.

- [22] Wang S.Y., Lin H-S.: Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivars and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 140-146.
- [23] Wilska-Jeszka J., Posędek A., Anders B.: Ocena porównawcza metod oznaczania tanin skondensowanych. Materiały XVIII Sesji Naukowej KTiChŻ PAN, Gdańsk 1997, s. 299.
- [24] Wilska-Jeszka J., Stasiak A.: Polyphenol compounds in grain legumes. Bioactive substances in food of plant origin – Materials of the International Euro Food Tox IV Conference, 22-24 September 1994, Olsztyn, **1**, pp. 126-130.
- [25] Wołosiak R.: Aktywność przeciwutleniająca albumin z nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris*) i grochu (*Pisum sativum*). Rozprawa doktorska, SGGW. Warszawa 2002.
- [26] Yu L., Perret J., Harris M., Wilson M., Haley S.: Antioxidant properties of bran extract from wheat grown at different locations. *J. Agric. Food Chem.*, 2003, **51**, 1566-1570.

THE ANTIOXIDANT PROPERTIES OF POLYPHENOL PREPARATIONS OBTAINED FROM BLACK, PINK, AND WHITE BEAN SEED COATS (*PHASEOLUS*)

S u m m a r y

The objective of this work was to study antioxidative properties of the preparations obtained from the seed coats of black, pink and white beans. To make the preparations, polyphenols were extracted using a 0.5% HCl solution (HCL in methanol), condensed under the vacuum conditions, and, finally, they underwent a lyophilization procedure. In order to provide a chemical profile of the preparations obtained, the contents of condensed tannins and anthocyanins were determined. Furthermore, the chelating capacity of the polyphenols and their effect on Fe(II) ions were determined. The antioxidative properties were determined in the presence of hydroxyl and ABTS^{•+} radicals. It was stated that polyphenols under investigation developed an antioxidative activity in the presence of both the ABTS^{•+} radicals (from 18% to 28.5%) and the hydroxyl radicals (from 25% to 95%). The preparations extracted from the black and pink bean coats developed the strongest antioxidative activity, whereas the preparation extracted from the white bean coats had the weakest antioxidant effect. This fact could be attributed to the higher contents of condensed tannins in the preparations made of colour bean coats.

Key words: polyphenols, antioxidant properties, ABTS^{•+} radicals, hydroxyl radicals ☒