

RENATA BIEŻANOWSKA-KOPEĆ, MAGDALENA FRAN CZYK,
PAWEŁ M. PISULEWSKI, SZYMON POLASZCZYK

**W PŁY W FERMENTACJI PRZEZ *RHIZOPUS MICROSPORUS*,
OLIGOSPORUS SP. T3 ORAZ KIEŁKOWANIA NA ZMIANY
ZAWARTOŚCI SKŁADNIKÓ W NASION FASOLI (*PHASEOLUS
VULGARIS L.*)**

Streszczenie

Celem badań było określenie wpływu wybranych procesów biologicznych: fermentacji na podłożu stałym przy użyciu pleśni *Rhizopus microsporus var. oligosporus* sp-T3 oraz kiełkowania na zawartość substancji odżywczych i nieodżywczych (inhibitorów trypsyny, polifenoli, tanin niehydrolizujących, fitynianów i α -galaktozydów – rafinozy i stachiozy) w nasionach fasoli.

Proces fermentacji nie wpłynął istotnie ($P > 0,05$) na podstawowy skład chemiczny nasion fasoli. Natomiast po 5-dniowym kiełkowaniu materiału badawczego stwierdzono, że zawartość białka wzrosła statystycznie istotnie ($P < 0,05$) z 24,7% s.m. w nasionach suchych do 27,7% s.m. w nasionach skiełkowanych, a zawartość węglowodanów zmalała ($P < 0,05$) z 69,7% s.m. do 66,2% s.m. Po procesie fermentacji stwierdzono zwiększenie zawartości polifenoli ($P < 0,05$) o 43,4%, w porównaniu z próbą kontrolną, oraz statystycznie istotne obniżenie ($P < 0,01$) zawartości inhibitorów trypsyny oraz tanin niehydrolizujących (odpowiednio o 100% i ok. 84%). W nasionach fasoli zarówno po fermentacji z *Rhizopus oligosporus* sp-T3, jak i po kiełkowaniu (w ciągu 5 dni), bardzo znacznie zmalała zawartość rafinozy ($P < 0,05$) (odpowiednio o 86,3% i 66,4%) oraz stachiozy ($P < 0,01$) (odpowiednio o 88,4% i 90,3%).

Nasiona fasoli poddane powyższym procesom biologicznym, w zależności od wybranych parametrów zabiegu, mogą być rozpatrywane jako potencjalne źródło produktów funkcjonalnych.

Słowa kluczowe: nasiona fasoli, składniki odżywcze, składniki nieodżywcze, fermentacja, kiełkowanie

Wprowadzenie

W nasionach roślin strączkowych występuje wiele związków nieodżywczych [4, 11], których systematyczne spożycie może zapobiegać rozwojowi chorób cywilizacyjnych, przede wszystkim chorób układu krążenia [2, 7] i raka [5, 14].

Poziom spożycia tych związków i ich aktywność biologiczna zależą w dużym stopniu od procesów obróbki, z reguły hydrotermicznych, którym poddawane są

Dr inż. R. Bieżanowska-Kopeć, mgr inż. M. Franczyk, prof. dr hab. P. M. Pisulewski, mgr inż. Sz. Polaszczyk, Katedra Żywności Człowieka, Wydział Technologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, tel. (012) 662 48 21, e-mail: rkopec@op.pl

nasiona roślin strączkowych. Efektem procesów hydrotermicznych jest znaczna eliminacja związków nieodżywczych lub zmniejszenie ich aktywności biologicznej [4] i tym samym utrata potencjalnych właściwości funkcjonalnych nasion roślin strączkowych.

Do alternatywnych, nietermicznych metod przygotowania nasion roślin strączkowych do spożycia należą metody biologiczne, m. in. fermentacja na podłożu stałym i kiełkowanie. Metody te są postrzegane jako mniej drastyczne i umożliwiające zachowanie, przynajmniej częściowo, właściwości funkcjonalnych omawianych nasion.

W tym kontekście, celem niniejszej pracy była ocena wpływu wybranych procesów biologicznych, tj. fermentacji na podłożu stałym i kiełkowania na zawartość składników odżywczych i nieodżywczych w nasionach czterech polskich odmian fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.): Polanki, Małopolanki, Longiny i Igołomskiej.

Materiał i metody badań

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

Fermentację nasion wykonywano przy użyciu szczepu pleśni *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* sp.-T3, pochodzącego z Institute for Microbial Resources z Taiwanu. 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.

Przygotowanie nasion fasoli do zaszczepienia obejmowało: (a) moczenie nasion w warunkach zmieniającej się temperatury (100°C-22°C/2 h), według Waszkiewicz-Robak [22], tj. nasiona zalewano wodą o temp. 100°C (proporcja wody do nasion 4:1) i pozostawiano w temp. pokojowej przez ok. 2 h (bez podgrzewania), uzyskując końcową temp. moczenia ok. 22°C; (b) gotowanie (60 min); (c) schładzanie do temp. pokojowej (ok. 25°C); (d) zaszczepianie 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 wyjaławiano 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). Kiełkujące nasiona zbierano codziennie przez kolejne 5 dni.

Zarówno po przeprowadzonym procesie fermentacji, jak i kiełkowania nasiona fasoli zamrażano (-20°C), liofilizowano i mielono. Materiał przechowywano w hermetycznie zamkniętych pojemnikach do czasu analiz.

Podstawowy skład nasion (zawartość suchej masy, białka ogółem, ekstraktu eterowego i popiołu) oznaczano standardowymi metodami AOAC [3], a łączną zawartość monosacharydów, oligosacharydów, polisacharydów i błonnika wyliczano z różnicy pozostałych oznaczonych składników. Aktywność antytrypsynową nasion oznaczano metodą Kakade i wsp. [8] z zastosowaniem substratu syntetycznego BAPNA (N- α -benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide-hydrochloride; Sigma). Ogólną zawartość polifenoli oznaczano metodą Swain i Hillis [18] z zastosowaniem odczynnika Folina-Ciocalteu'a (Sigma). Polifenole ekstrahowano 80% alkoholem etylowym pod chłodnicą zwrotną, w temp. wrzenia przez 30 min. Zawartość tanin niehydrolizujących (skondensowanych) oznaczano metodą wanilinową według Price i wsp. [16]. Taniny ekstrahowano 1% HCl w metanolu, a ich stężenie wyrażano w ekwiwalentach (\pm)katechiny (mg/g s.m.). Z uwagi na znikomą zawartość tanin w białych odmianach fasoli, oznaczano je tylko w Małopolance (odmianie o nasionach czerwonych). Zawartość fitynianów oznaczano według Latta i Eskin [13]. Zawartość oligosacharydów (α -galaktozydów) oznaczano metodą wysokosprawnej cieczonej chromatografii (HPLC) według Trugo i wsp. [20].

Analizy badanego materiału wykonano w trzech powtórzeniach z każdej odmiany fasoli. Przedstawione wyniki są wartościami średnimi z 12 oznaczeń. Uzyskane dane poddano jednoczynnikowej analizie wariancji przy użyciu pakietu Statistica 6.1. Istotność różnic pomiędzy efektami zastosowanych procesów oceniano przy użyciu testu Duncana na poziomach istotności $P < 0,05$ i $P < 0,01$.

Wyniki i dyskusja

Zgodnie z definicją pojęcia żywności funkcjonalnej, produkt spożywczy mający te właściwości, winien zachowywać wszelkie cechy produktu standardowego oraz dodatkowo oddziaływać na stan zdrowia człowieka w zakresie przekraczającym klasyczne efekty żywieniowe [10]. W tym kontekście ocena właściwości funkcjonalnych, w tym przypadku fasoli, winna być zawsze poprzedzona klasyczną oceną ich składu chemicznego.

Wpływ procesów biologicznych na zawartość składników odżywczych w nasionach fasoli

W składzie podstawowym suchych nasion fasoli (% s.m.), zawartość białka wynosiła 24,73% (tab. 1), tłuszczu 1,41%, związków mineralnych oznaczonych jako popiół 4,21% a łączna zawartość monosacharydów, oligosacharydów, polisacharydów i błonnika 69,65% (tab. 1).

T a b e l a 1

Podstawowy skład chemiczny nasion fasoli determinowany wpływem procesów biologicznych [g/100 g s.m.]

Effect of biological processing on gross chemical composition of common bean seeds [g/100 g d.m.]

Proces biologiczny Biological process	Białko Protein	Ekstrakt eterowy Ether extract	Popiół ogółem Total ash	Sacharydy ogółem Total saccharides
Próba kontrolna (nasiona suche) Control sample (dry seeds)	24,73± 0,69 a	1,41±0,07 ABC	4,21±0,12 CD	69,65±0,67 bc
Fermentacja z <i>Rhizopus sp-T3</i> Fermentation with <i>Rhizopus sp-T3</i>	25,59±0,78 ab	1,32±0,11 ABC	3,39±0,12 A	69,69±0,89 bc
Kiełkowanie 1 dzień Germination 1 day	25,88±0,78 ab	1,24±0,14AB	3,99±0,17 BC	68,89±0,87 bc
Kiełkowanie 2 dni Germination 2 days	26,27±0 ab	1,28±0,13AB	4,12±0,16 CD	68,34±0,71 abc
Kiełkowanie 3 dni Germination 3 days	26,51±0,67 ab	1,32±0,08 ABC	4,18±0,18 CD	68,00±0,79 abc
Kiełkowanie 4 dni Germination 4 days	26,93±0,63 ab	1,44±0,12 ABC	4,39±0,15 CD	67,24±0,73 ab
Kiełkowanie 5 dni Germination 5 days	27,70±0,85 b	1,49±0,08 BC	4,58±0,20 D	66,24±0,99 a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0,05$ (a, b, c, d) lub dla $P < 0,01$ (A, B, C, D) / Mean values in the same column bearing different letters differ significantly at $P < 0.05$ level (a, b, c, d) or at $P < 0.01$ level (A, B, C, D).

Proces fermentacji nie wpłynął statystycznie istotnie ($P > 0,05$) na zawartość białka, w porównaniu z nasionami surowymi, natomiast kiełkowanie zwiększało systematycznie ilość tego składnika. W piątym dniu tego procesu zawartość białka wzrosła o 12,0% ($P < 0,05$). Wzrost ten, wynikający ze zmian proporcji pomiędzy poszczególnymi składnikami odżywczymi w suchej masie produktu, stwierdzili także w swych badaniach Alonso i wsp. [1], Donangelo i wsp. [6] oraz Khalil i Mansour [9]. Przeprowadzone procesy biologiczne nie wpłynęły istotnie ($P > 0,05$) na zawartość tłuszczu w nasionach fasoli. Wyniki uzyskane w kiełkowanych nasionach są także potwierdzeniem obserwacji Donangelo i wsp. [6].

Nasiona fermentowane przy użyciu kultury *Rhizopus microsporus* charakteryzowały się statystycznie istotnie niższą ($P < 0,01$) zawartością związków mineralnych, oznaczonych jako popiół, w porównaniu z nasionami surowymi. Zmiany te wynikają z dyfuzji niektórych składników mineralnych z nasion do roztworu podczas procesu moczenia poprzedzającego proces fermentacji. Proces kiełkowania nasion fasoli nie wpłynął istotnie na zawartość popiołu, co potwierdza wcześniejsze badania Donangelo i wsp. [6].

Zastosowane procesy biologiczne nie wpłynęły znacząco na zawartość węglowodanów ogółem. Jedynie w 5. dniu procesu kiełkowania zawartość węglowodanów była istotnie mniejsza ($P < 0,05$) w porównaniu z nasionami surowymi

(-4,9%). Efekt ten można tłumaczyć wykorzystaniem podstawowego energetycznego materiału zapasowego nasion fasoli, tj. węglowodanów w procesach kiełkowania. Podobny efekt obserwowali wcześniej Donangelo i wsp. [6]. Bardziej znaczące zmniejszenie zawartości węglowodanów (o 89,3%) wykazali w fermentowanych nasionach lędźwianu Kuo i wsp. [12]. Było to niewątpliwie związane z wykorzystaniem tego składnika przez badaną pleśń.

Wpływ procesów biologicznych na zawartość składników nieodżywczych w nasionach fasoli

Zawartość inhibitorów trypsyny, polifenoli, tanin niehydrolizujących i fitynianów przedstawiono w tab. 2.

Średnia zawartość inhibitorów trypsyny w suchej fasoli wynosiła 29,48 TIU/mg s.m. Proces fermentacji fasoli przy użyciu *Rhizopus oligosporus*, poprzedzony moczeniem nasion „na gorąco” likwidował całkowicie aktywność inhibitorów trypsyny; było to prawdopodobnie efektem czynnika termicznego (denaturacją inhibitorów), a nie biologicznego. Natomiast proces kiełkowania nie wpływał statystycznie istotnie ($P > 0,01$) na zawartość inhibitorów trypsyny. Przeciwnie, Khalil i Mansour [9] wykazali, że kiełkowanie nasion bobiku (72 h) redukuje ich aktywność antytrypsynową o 31,9%, co wynikało prawdopodobnie ze wstępnego suszenia skiełkowanych nasion (50°C przez 12 h) w trakcie przygotowywania próbek do analiz.

W surowych nasionach fasoli średnia zawartość polifenoli wynosiła 2,28 mg/g s.m. Przeprowadzone procesy biologiczne zwiększały istotnie ($P < 0,05$) ilość polifenoli. Największą zawartość tych związków oznaczono po procesie fermentacji (+43,4%). Podobne zmiany w kiełkowanych nasionach bobu stwierdzili w swych badaniach Pisulewski i wsp. [15]. Natomiast znaczące zmniejszenie termolabilnych polifenoli po procesie kiełkowania, będące wynikiem suszenia nasion, uzyskano wcześniej [1].

Taniny niehydrolizujące (skondensowane) występują w nasionach fasoli białej w śladowych ilościach, dlatego też zawartość tego składnika oznaczano tylko w kolorowej fasoli ‘Małopolanka’. Poziom tanin w surowej fasoli wynosił 4,39 mg/g s.m. Proces fermentacji redukował bardzo znacząco ($P < 0,01$) zawartość tego składnika (0,71 mg/g s.m.). Taniny są związkami termolabilnymi, co miało wpływ na obniżenie ich zawartości po obróbce cieplnej (moczeniu i gotowaniu) poprzedzającej fermentację. Przeprowadzony proces kiełkowania nie wpływał na zawartość tanin niehydrolizujących. Przeciwny efekt uzyskany przez Khalil i Mansour [9] w nasionach kiełkowanych był, podobnie jak wyżej, rezultatem suszenia próbek przed przeprowadzeniem analiz.

T a b e l a 2

Zawartość składników nieodżywczych w nasionach fasoli, determinowany wpływem procesów biologicznych

Effect of biological processing on non-nutrient composition in common bean seeds

Proces biologiczny Biological process	Inhibitory trypsyny [TIU/mg S.M.] Trypsin inhibitors [TIU/mg S.M.]	Polifenole [mg katechiny/g s.m.] Polyphenols [mg catechin/g d.m.]	Taniny * [mg/g s.m.] Tannins [mg/g d.m.]	Fityniany mg/g s.m. Phytates [mg/g d.m.]
Próba kontrolna (nasiona suche) Control sample (dry seeds)	29,48±3,55 CD	2,28±0,63 A	4,39±0,07 B	19,25±1,80 A
Fermentacja z <i>Rhizopus sp-T3</i> Fermentation with <i>Rhizopus sp-T3</i>	0 A	3,27±0,54 C	0,71±0,02 A	16,62±1,18 A
Kiełkowanie 1 dzień Germination 1 day	24,46±5,53 BCD	2,40±0,65 Ab	4,83±0,04 BC	18,75±2,55 A
Kiełkowanie 2 dni Germination 2 days	23,85±4,80 BC	2,72±0,65 Abc	4,70±0,07 BC	18,78±2,28 A
Kiełkowanie 3 dni Germination 3 days	27,83±5,93 CD	2,82±0,66 Abc	4,55±0,03 BC	18,78±2,14 A
Kiełkowanie 4 dni Germination 4 days	27,49±5,92 CD	2,90±0,57 Bc	4,62±0,03 BC	18,49±2,09 A
Kiełkowanie 5 dni Germination 5 days	27,25±6,49 CD	2,95±0,47 Bc	4,25±0,02 B	18,38±2,19 A

Objaśnienia: / Explanatory notes:

* Dane odnoszące się do nasion fasoli 'Małopolanka' (odmiana o czerwonych nasionach) / Data for 'Małopolanka' bean seeds (a red seed cultivar)

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0,05$ (a, b, c, d) lub na poziomie $P < 0,01$ (A, B, C, D) / Mean values in the same column bearing different letters differ significantly at $P < 0.05$ level (a, b, c, d) or at $P < 0.01$ level (A, B, C, D).

Średnia zawartość fitynianów w surowej fasoli wynosiła 19,25 mg/g s.m. nasion. Zastosowane procesy biologiczne nie spowodowały istotnego zmniejszenia zawartości fitynianów ($P > 0,05$), jednak dłuższy czas kiełkowania wpływał na niższy poziom tego składnika. Podobne zmiany, wynikające z czasu kiełkowania, stwierdzili Alonso i wsp. [1]. Również Donangelo i wsp. [6] wykazali, że dwa dni kiełkowania są niewystarczające do aktywacji fitazy rozkładającej kwas fitynowy, jednak efekty uzależnione są w dużej mierze od gatunku nasion.

Tabela 3

Zawartość α -galaktozydów nasion fasoli determinowana wpływem procesów biologicznych [mg/g s.m.]
Effect of biological processing on the content of α -galactosides in common bean seeds [mg/g d.m.]

Proces biologiczny Biological process	Rafinoza Raffinose	Stachioza Stachyose
Próba kontrolne (nasiona suche) Control sample (dry seeds)	5,90±1,24 c	60,28±6,11 C

Fermentacja z <i>Rhizopus sp-T3</i> Fermentation with <i>Rhizopus sp-T3</i>	0,81±0,68 a	7,00±0,97 A
Kiełkowanie 2 dni Germination 2 days	3,45±0,46 abc	45,15±11,32 BC
Kiełkowanie 5 dni Germination 5 days	1,98±1,17 ab	5,87±3,56 A

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie na poziomie $P < 0,05$ (a, b, c, d) lub na poziomie $P < 0,01$ (A, B, C, D) / Mean values in the same column bearing different letters differ significantly at $P < 0.05$ level (a, b, c, d) or at $P < 0.01$ level (A, B, C, D).

Zawartość α -galaktozydów (rafinozy i stachiozy) w surowych nasionach fasoli wyniosła odpowiednio 5,90 i 60,28 mg/g s.m. (tab. 3). Proces fermentacji redukował zawartość rafinozy i stachiozy odpowiednio o 86 i 88%, a kiełkowanie odpowiednio o 66 i 90%. Podobne zmiany, wynikające z procesu fermentacji, uzyskali Kuo i wsp. [12]. Używany szczep *Rhizopus oligosporus* ma zdolność hydrolizy i fermentacji monosacharydów i oligosacharydów, m.in. glukozy, fruktozy, galaktozy oraz rafinozy i stachiozy [12, 17]. Redukcja zawartości α -galaktozydów podczas kiełkowania była zbliżona do wyników podobnych doświadczeń [6, 19, 21].

Wnioski

1. Proces fermentacji nasion prowadzi do wzrostu zawartości polifenoli oraz bardzo znaczącej eliminacji niektórych składników nieodżywczych, m.in. inhibitorów trypsyny i tanin oraz rafinozy i stachiozy.
2. Nasiona fasoli poddane procesowi kiełkowania charakteryzują się wyższą zawartością białka i polifenoli, natomiast niższym poziomem rafinozy i stachiozy.
3. Zastosowane procesy biologiczne, po optymalizacji warunków eliminacji związków nieodżywczych, mogą być rozpatrywane jako metody przygotowywania nasion roślin strączkowych do spożycia, pozwalające na zachowanie właściwości funkcjonalnych omawianych nasion.

Literatura

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] AOAC Official Methods of Analysis (16th Ed). Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA: 1995.
- [4] Champ M.M.-J.: Non-nutrient bioactive substances of pulses. Br. J. Nutr. 2002, **88** (suppl. 3), 307-319.
- [5] Darewicz M., Dziuba J., Panfil T.: Biologicznie aktywne składniki żywności funkcjonalnej w profilaktyce chorób nowotworowych. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2003, **4** (37), 36-47.

- [6] Donangelo C.M., Trugo L.C., Trugo N.M.F., Eggum B.O.: Effect of germination of legume seeds on chemical composition and protein and energy utilization in rats. *Food Chem.*, 1995, **53**, 23-27.
- [7] Grajek W.: Rola przeciwutleniaczy w zmniejszeniu ryzyka wystąpienia nowotworów i chorób układu krążenia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2004, **1(38)**, 3-11.
- [8] Kakade M.L., Rackis J.J., Mcghee J.E., Puski G.: Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: A collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem.*, 1974, **51**, 376-382.
- [9] 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.
- [10] Kostyra H.: Nauka o żywności na progu XXI wieku. *Przem. Spoż.*, 1999, **9**, 68-70.
- [11] Kozłowska H., Zduńczyk Z., Honke J.: Legume grains for food and non food uses. In: Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes, Valladolid, AEP (Ed), 1998, pp. 23-26.
- [12] 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.
- [13] Latta M., Eskin M.: A simple and rapid colorimetric method for phytate determination. *J. Agric. Food Chem.*, 1980, **28**, 1313-1315.
- [14] 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.
- [15] Pisulewski P.M., Pisulewska E.K., Sawina-Pysz J.: Wpływ procesów termicznych oraz kiełkowania na skład chemiczny i zawartość substancji nieodżywczych w suchych nasionach bobu (*Vicia faba* var. *major*). *Bibl. Fragm. Agron.*, 2000, **8**, 231-240.
- [16] Price M.L., Scoyoc S.V., Butler L.G.: A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.*, 1978, **26**, 5, 1214-1218.
- [17] Schwertz A., Villaume C., Decaris B., Percebois G., Mejean L.: New identification of the strain *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* spT3 as *Rhizopus microsporus* var. *chinensis*. *Can. J. Microbiol.*, 1997, **43**, 971-976.
- [18] 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.
- [19] Trugo L.C., Donangelo C.M., Trugo N.M.F., Knudsen K.E.B.: Effect of heat treatment on nutritional quality of germinated legume seeds. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 2082-2086.
- [20] Trugo L.C., Farah A., Cabral L.: Oligosaccharide distribution in Brazilian soya bean cultivars. *Food Chem.*, 1995, **52**, 385-387.
- [21] Vidal-Valverde C., Frias J., Lambein F., Kuo Y.H.: Increasing the functionality of legumes by germination. W: Proceedings of the 4th European Conference on Grain Legumes, Cracow, AEP (Ed), 2001, s. 422.
- [22] Waszkiewicz - Robak B.: Możliwości skrócenia czasu trwania obróbki kulinarnej nasion soi i innych roślin strączkowych. *Biuletyn IHAR*, 1996, **198**, 171-177.

EFFECT OF RHIZOPUS MICROSPORUS, OLIGOSPORUS SP-T3 FERMENTATION AND GERMINATION PROCESSING ON CONTENTS OF COMPOUNDS IN COMMON BEAN (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) SEEDS

S u m m a r y

The objectives of this research were to study the effects of two biological processing methods, namely solid-state fermentation (using *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* sp-T3) and germination on the content of nutrients (protein, fat, ash and carbohydrates) and non-nutrients (trypsin inhibitors, polyphenols, tannins, phytates and α -galactosides – raffinose and stachyose) in common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.).

Fermentation process had no statistically significant effect ($P > 0.05$) on gross chemical composition of common bean seeds. However after 5-day germination protein content statistically significant increased ($P < 0.05$) (from 24.73% d.m in dry seeds to 27.7% d.m.) and content of carbohydrate concentration decreased ($P < 0.05$) (from 69.7% d.m. to 66.2% d.m.). Solid-state fermentation increased ($P < 0.05$) polyphenol concentration by 43.4% and decreased ($P < 0.01$) both trypsin inhibitors (by 100%) and tannins (by 84%). Solid-state fermentation and 5 days germination led to significant elimination of raffinose ($P < 0.05$) (adequate by 86.3% and 66.4%) and stachyose ($P < 0.01$) (adequate by 88.4% and 90.3%) in the common bean seeds. In conclusion, the above biological processing methods may favorably alter the concentrations of bioactive non-nutrients in common bean seeds and retain their expected, functional properties.

Key words: common beans, nutrients, non-nutrients, fermentation, germination ☒