

ADRIANNA MIKOŁAJCZAK, BEATA DRUŻYŃSKA

## ANTYOKSYDACYJNE WŁAŚCIWOŚCI POLIFENOLI OKRYW NASIENNYCH FASOLI KOLOROWEJ

### Streszczenie

W pracy podjęto tematykę związaną z przebadaniem właściwości antyoksydacyjnych związków polifenolowych, a głównie tanin, obecnych w okrywach nasion fasoli kolorowej. Izolację polifenoli przeprowadzano za pomocą ekstrakcji łuski 0,5% roztworem kwasu solnego w metanolu. Zebrany ekstrakt zagęszczano pod próżnią, a następnie liofilizowano.

W preparatach oznaczano m.in. zawartość tanin hydrolizujących i skondensowanych, katechin oraz antocyjanów.

Preparaty wykazywały właściwości przeciwutleniające. Preparat z fasoli brązowej, zawierający większą ilość tanin (92%), okazał się bardziej efektywnym antyoksydantem niż preparat z fasoli czerwonej.

### Wstęp

W technologii żywności istnieje obecnie tendencja zastępowania syntetycznych przeciwutleniaczy naturalnymi inhibitorami utleniania, gdyż są one bardziej bezpieczne. Wśród występujących w surowcach roślinnych składników powszechnie znane są antyoksydacyjne właściwości polifenoli roślinnych (flawonoidów i fenolokwasów) [2, 4, 8, 14].

Aktywność przeciwutleniająca polifenoli czarnej herbaty, czerwonego wina czy nasion roślin oleistych była przedmiotem wielu prac [5, 6, 12, 16, 17]. Niewiele natomiast doniesień jest związanych z działaniem antyoksydacyjnym polifenoli zawartych w nasionach fasoli. Stąd w przedstawionej pracy podjęto tematykę związaną z przebadaniem związków polifenolowych, głównie tanin, obecnych w okrywach ich nasion.

### Material i metody badań

Materiałem doświadczalnym były suche nasiona fasoli kolorowej. Badano dwie odmiany fasoli: o łusce czerwonej („Red Kidney”) i brązowej („Nida”).

Fasolę moczo w wodzie destylowanej 24 godziny, a następnie ręcznie obłuszczało. Uzyskaną łuskę suszono i rozdrabniano.

Polifenole z łuski ekstrahowano wg Tsudy [15]. Zebrane ekstrakty zagęszczano pod próżnią (40°C), a następnie liofilizowano. Otrzymane preparaty w dalszej części pracy opatrzone symbolami: liofilizowany preparat z łuski fasoli czerwonej - PBC, z łuski fasoli brązowej - PBB.

W badanych liofilizatach oznaczano: suchą substancję, popiół [9], żelazo [3], katechiny ogółem [13], taniny skondensowane [10], taniny hydrolizujące [1], antocyjany [13]. Właściwości antyoksydacyjne preparatów oznaczano metodą z tiocyjankiem żelaza [7, 15].

Przeciwutleniające właściwości liofilizatów badano z kwasem linolowym. Symulację jego utleniania prowadzono w temperaturze 60°C, umieszczając próbki w termostacie. Próbkę kwasu linolowego bez dodatku preparatów była traktowana jako próbka odniesienia. We wstępnych doświadczeniach ustalono dawkę preparatów, która wynosiła 0,5 ml 0,25% wodnego roztworu liofilizatu.

Stopień utlenienia kwasu oznaczano spektrofotometrycznie (500 nm) z tiocyjankiem żelaza. Pomiarów dokonywano co 24 godziny. Doświadczenia prowadzono przez 28 dni. Na podstawie uzyskanych wyników obliczano wartość względnej aktywności antyoksydacyjnej:

$$A_{kt} (\%) = A_{od} - A_{wł} / A_{od}$$

gdzie:  $A_{od}$  - absorbancja próbki odniesienia  
 $A_{wł}$  - absorbancja próbki właściwej;

## Wyniki i dyskusja

Skład chemiczny preparatów z łuski fasoli przedstawiono w tab. 1.

W preparatach oprócz suchej substancji i popiołu oznaczano również żelazo, gdyż jako metal o zmiennej wartościowości należy ono do czynników stymulujących procesy oksydacji. Nie stwierdzono obecności żelaza w preparatach.

Tabela 1

Skład chemiczny preparatów z łusek fasoli.  
 Chemical compound of bean seed coat preparations.

Preparat Type of preparation	s.s. Dry mass %	Popiół Ash % s.s.	Żelazo Iron % s.s.	Fenole Phenols % s.s.
PBC	89,1	20,9	n.d.	35,7
PBB	91,1	20,1	n.d.	43,1

Tabela 2

Właściwości antyoksydacyjne preparatów otrzymanych z łuski fasoli.  
Antioxidant properties of bean seed coat preparations.

Preparat Type of preparation	Katechiny Catechines (%)	Taniny skondensowane Condensed tanins (%)	Taniny hydrolizujące Hydrolysing tanines (%)	Antocyjany Anthocyanins (%)
	% ogólnej ilości / % of total amount			
PBC	3,1	21,5	44,4	31,0
PBB	4,9	44,5	47,1	3,5

W preparatach oznaczano zawartość katechin, antocyjanów, tanin skondensowanych i hydrolizujących. W tab. 2 podano % udział związków polifenolowych w stosunku do całkowitej zawartości polifenoli w preparatach.

Zawartość katechin ogółem, wyrażana jako epikatechina, wynosiła 1,10 mg/100 mg liofilizatu w PBC i prawie dwukrotnie więcej w PBB (2,12 mg/100 mg). Udział tego związku w stosunku do ogólnej zawartości polifenoli był najniższy.

Antocyjany wyraźnie przeważały w preparacie z łuski fasoli czerwonej (11,04 mg/100 mg), było ich prawie dziesięć razy więcej niż w preparacie z fasoli brązowej (1,49 mg/100 mg). Związane jest to z różnicą w zabarwieniu okryw nasiennych obu odmian fasoli. Barwniki antocyjanowe nadają barwę łusce, stąd większy ich udział w preparacie z fasoli o bardzo intensywnym czerwono-brunatnym zabarwieniu („Red Kidney”).

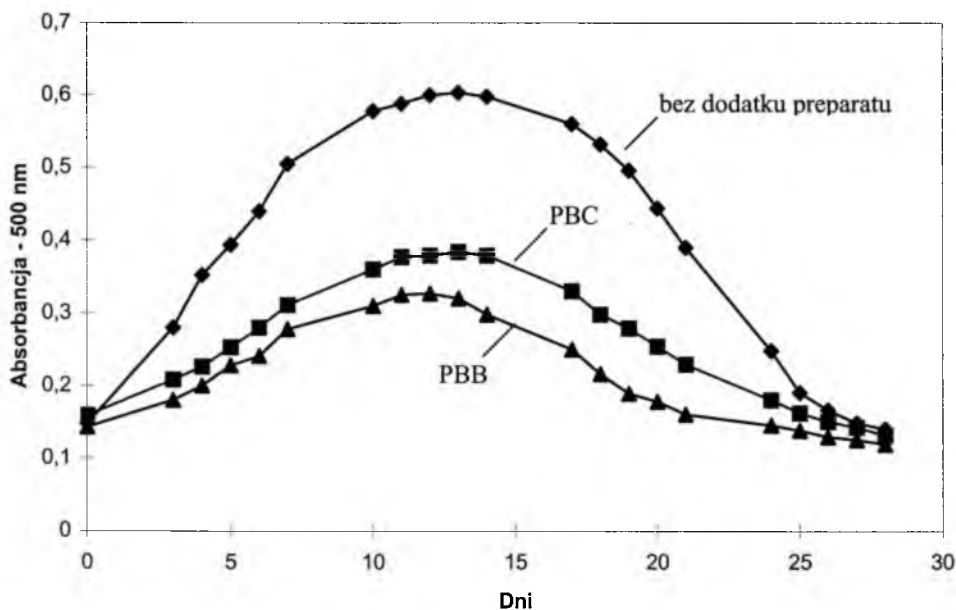
Taniny są to związki zróżnicowane pod względem struktury oraz właściwości. Dzielą się one na dwie grupy: taniny hydrolizujące i skondensowane. W niniejszej pracy oznaczano obie wyżej wymienione grupy. Zawartość tanin skondensowanych zgodnie z metodyką wyrażano w jednostkach katechiny, a tanin hydrolizujących w jednostkach kwasu taninowego. Zawartość tanin skondensowanych zależy w dużym stopniu od sposobu ekstrakcji (temperatury, czasu, rozpuszczalnika) oraz odmiany nasion [10, 11]. W badanych odmianach zawartość tanin skondensowanych wynosiła: 7,69 mg katechiny/100 mg liofilizatu PBC oraz 19,20 mg katechiny/100 mg liofilizatu PBB. Natomiast zawartość tanin hydrolizujących była na zbliżonym poziomie w obu preparatach i wynosiła 20,32 mg/100 mg w PBB i 15,88 mg/100 mg w PBC.

Badane preparaty różniły się więc wyraźnie zawartością poszczególnych polifenoli. W preparacie z fasoli czerwonej taniny hydrolizujące stanowiły ~ 44%, natomiast wysoka była zawartość antocyjanów ~ 31%. W łusce z fasoli brązowej przeważały taniny, ich ogólna zawartość wynosiła ~ 92%, a zawartość antocyjanów była na poziomie 3,5%.

Otrzymane preparaty polifenolowe z łuski fasoli czerwonej (PBC) i brązowej (PBB) stosowano jako antyoksydanty. Badano utlenianie kwasu linolowego, do którego dodano preparaty. Próbkę kwasu linolowego bez dodatku preparatów była traktowana jako próbka odniesienia. Proces oksydacji prowadzono przez 28 dni, pobierając próbki do oznaczeń co 24 godziny. Wyniki przebiegu procesu oksydacji przedstawiono na rys. 1. Z danych wynika, że największe zmiany oksydacyjne kwasu linolowego zaszły po 14 dniach termostatowania. Barwniki otrzymane z łuski fasoli działały hamująco na proces utleniania kwasu. We wszystkich oznaczeniach otrzymano niższe wartości absorbancji w stosunku do próbki odniesienia. Preparat z fasoli brązowej działał bardziej efektywnie i w większym stopniu hamował utlenianie.

Obliczone wartości aktywności antyoksydacyjnej (tab. 3) wykazały, że preparat z fasoli brązowej ma lepsze właściwości antyoksydacyjne w porównaniu z preparatem otrzymanym z fasoli czerwonej.

W obu preparatach można było zaobserwować wzrost wartości w okresie między 7, a 10 dniem inkubacji. Następnie wartości te obniżały się i po 18–19 dniach ponownie rosły i znowu obniżały się. Obserwacje te mogą świadczyć o tym, że podczas termostatowania proces propagacji rodników nadtlenkowych przebiegał w kilku etapach.



Rys. 1. Proces utleniania kwasu linolowego.

Fig. 1. Linoleic acid oxidation process.

Tabela 3

Procentowy udział polifenoli preparatach.  
Polyphenols contents in preparations.

Dni Days	Aktywność antyoksydacyjna / Antioxidative activity (%)	
	PBC	PBB
3	25,7	35,7
4	35,8	43,2
5	35,8	42,1
6	36,4	45,2
7	38,4	45,0
10	37,7	46,4
11	35,9	44,7
12	36,8	45,5
13	36,3	46,9
14	36,6	50,2
17	41,1	55,4
18	44,0	59,4
19	43,8	61,9
20	42,8	59,9
21	41,3	59,0
24	27,4	41,5
25	14,7	27,4
26	9,6	22,3
27	4,1	15,5
28	6,4	15,0

Preparat z fasoli brązowej działał skuteczniej prawdopodobnie w wyniku wyższej zawartości tanin. Preparat z fasoli czerwonej zawierał więcej antocyjanów, a mniej tanin. Działanie tego preparatu jako antyoksydanta było mniej skuteczne.

### Wnioski

1. Otrzymane preparaty działały hamująco na proces utleniania kwasu linolowego.
2. Preparat z fasoli brązowej wykazywał wyższą aktywność antyoksydacyjną niż preparat z fasoli czerwonej.
3. Dominującą grupą polifenoli w łusce nasion fasoli kolorowej są taniny, ich ogólna zawartość w preparacie z fasoli czerwonej stanowi 66%, a w preparacie z fasoli brązowej 92%.

## LITERATURA

- [1] Association of Official Analytical Chemist's (AOAC), 1990, nr 952.03.
- [2] Carbonaro i in.: Evidence for protein-tannin interaction in legumes: implications in the antioxidant properties of faba bean tannins. *Lebensm. Wiss. u.- Technol.*, **29**, 1996, 743.
- [3] Cygański A. *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*. WNT, Warszawa 1993.
- [4] Deshpande S. S., Cheryan M.: Determination of phenolic compounds of dry beans using vanillin, redox and precipitation assays. *J. of Food Sci.*, **2**, 1987, 332.
- [5] Husain S. R., Cillard J., Cillard P.: Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*, **26**, 1987, 2489.
- [6] Miyake T., Shibamoto T.: Antioxidative activities of natural compounds found in plants. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 1819.
- [7] Osawa T., Namiki M.: A novel type of antioxidant isolated from wear wax of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 1981, 735.
- [8] Oszmiański J.: Polifenole jako naturalne przeciwutleniacze. *Przem. Spoż.*, **3**, 1995, 94.
- [9] PN – 90/A- 74101/02. Przetwory owocowe i warzywne. Przygotowanie próbek i metody badań fizykochemicznych.
- [10] 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.*, **5**, 1978, 1241.
- [11] Shahidi F., Naczki M.: Effect of processing on the content of condensed tannins in rapeseed meals. *J. of Food Sci.*, 1989, 4 1082.
- [12] Simonetti P., Pietta P., Testolin G.: Polyphenol content and antioxidant potential of selected italian wines. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 1152.
- [13] Swain T., Hillis W. E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 1959, 63.
- [14] Takeoka G.R. i in.: Characterization of Black Bean (*Phaseolus vulgaris L.*) anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 1997, 3395.
- [15] Tsuda T., Ohshima K., Kawakishi S., Osawa T.: Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris L.* *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1994, 248.
- [16] Wiseman S.A., Balentine D. A., Frei B.: Antioxidants in tea. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **37**, 1997, 705.
- [17] Yen G.-C., Chen H.-Y.: Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1995, 27.

**ANTIOXIDANT PROPERTIES OF POLYPHENOLS EXTRACTED  
FROM COLOURED BEAN SEED COATS**

## S u m m a r y

Antioxidant properties of phenolic compounds, mainly tannins, present in red and brown bean seed coats were investigated. Polyphenols were extracted with 0.5% HCl in methanol, vacuum condensed and lyophilised.

The amount of hydrolysing and condensed tannins, catechines and anthocyanins was evaluated in preparations. Antioxidant properties were measured against linoleic acid. The process of oxidation was monitored with a spectrophotometric method.

All the preparations exhibited antioxidant activity. The brown bean preparation, which had the high tannin content (92%), was more effective as an antioxidant than red bean preparation.