

## **CHARAKTERYSTYKA PREPARATÓW POLIFENOLI OTRZYMANÝCH Z OKRYWY NASIENNEJ FASOLI CZERWONEJ, BRĄZOWEJ I BIAŁEJ I ICH WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWUTLENIAJĄCE**

Beata Drużyńska, Mirosława Klepacka

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

**Streszczenie.** Celem pracy było określenie właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli uzyskanych z okrywy nasiennej fasoli brązowej, czerwonej i białej. Preparaty otrzymano przez ekstrakcję polifenoli 0,5-procentowym roztworem HCl w metanolu, zagęszczanie pod próżnią i liofilizację. Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów obejmowała określenie zawartości polifenoli ogółem, tanin skondensowanych i antocyjanów. Badania właściwości przeciwutleniających preparatów polifenoli obejmowały oznaczanie zdolności preparatów do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH<sup>•</sup>, rodników nadtlenkowych i wtórnych produktów ich rozpadu. Zbadano również ochronny wpływ preparatów polifenoli na  $\beta$ -karoten, ulegający degradacji pod wpływem nadtlenków kwasu linolowego w układzie emulsyjnym. Stwierdzono, że wszystkie badane preparaty wykazywały aktywność przeciwrodnikową zarówno wobec rodników nadtlenkowych (83-87%), wtórnych produktów ich rozpadu (78-87%), jak i rodników DPPH<sup>•</sup> (50-67%). Wszystkie badane preparaty chroniły  $\beta$ -karoten przed degradacją spowodowaną nadtlenkami. Większą aktywnością charakteryzowały się preparaty z fasoli kolorowych, co było spowodowane prawdopodobnie większą zawartością polifenoli.

**Słowa kluczowe:** polifenole, właściwości przeciwutleniające, rodniki nadtlenkowe, rodniki DPPH<sup>•</sup>

### **WSTĘP**

Obecnie w technologii żywności jednym z najważniejszych kierunków badań jest poszukiwanie nowych metod zabezpieczania produktów przed niekorzystnymi zmianami, które mogą zachodzić zarówno podczas produkcji, jak i przechowywania żywności. Do najbardziej niekorzystnych zmian w produktach żywnościowych zaliczamy reakcje utleniania. Powodują one zarówno obniżenie wartości żywieniowej (np. degradację

---

Adres do korespondencji – Corresponding author: dr inż. Beata Drużyńska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa, e-mail: druzynska@delta.sggw.waw.pl

niektórych witamin), jak i pogorszenie smaku oraz powstawanie toksycznych produktów reakcji, do których zaliczamy wolne rodniki i produkty ich rozpadu.

Wolne rodniki są dużym zagrożeniem dla zdrowia, powodują uszkodzenie komórek i tkanek, co prowadzi do wielu chorób i przyspiesza procesy starzenia [Simonetti i in. 1997]. Efektem działania wolnych rodników w żywności jest przede wszystkim utlenianie lipidów. Procesom oksydacyjnym zapobiega się przez dodatek przeciwutleniaczy. W przemyśle spożywczym są stosowane przeciwutleniacze syntetyczne (pochodne fenolu) o dużej skuteczności w powstrzymaniu reakcji utleniania. Ich zastosowanie jest jednak ograniczone ze względu na ich toksyczność [Wang i in. 2000]. 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 antyoksydantów, bardzo zróżnicowaną pod względem struktury i właściwości stanowią polifenole. Są to związki chemiczne, na które w technologii żywności zwraca się w ostatnich latach szczególną uwagę. Ich właściwości przeciwutleniające są dobrze udokumentowane w literaturze [Wang i Lin 2000, Simonetti i in. 1997]. Wśród roślin strączkowych dane dotyczą przede wszystkim polifenoli zawartych w soi [Wilska-Jeszka i Stasiak 1994], natomiast niewiele jest prac opisujących działanie antyoksydacyjne polifenoli występujących w nasionach krajowych roślin strączkowych, a szczególnie fasoli. Dlatego też w niniejszej pracy podjęto tematykę związaną z badaniem składu i właściwości przeciwutleniających polifenoli zawartych w okrywie nasiennej fasoli.

## MATERIAŁ I METODY

Materiałem badawczym były preparaty polifenoli otrzymane z okrywy nasiennej fasoli brązowej ('Nida'), czerwonej ('Red Kidney') i białej ('Jaś Tyczny'). Nasiona fasoli moczono w wodzie przez 24 godziny, a następnie ręcznie obłuszczano. Okrywę suszono w temp. pokojowej i mielono. Polifenole ekstrahowano 0,5-procentowym roztworem kwasu solnego w metanolu, wytrąsając przez 24 godziny w temp. pokojowej. Otrzymany ekstrakt zagęszczano pod próżnią w temp. 50°C i poddawano liofilizacji [Tsuda i in. 1994].

Charakterystyka chemiczna otrzymanych preparatów obejmowała określenie zawartości polifenoli ogółem (wynik wyrażano w przeliczeniu na kwas galusowy) [Singleton i Rossi 1965], tanin skondensowanych (wynik przeliczano na (+)katechinę) [Price i in. 1978] i antocyjanów [Swain i Hillis 1959].

Badając właściwości przeciwutleniające preparatów polifenoli oznaczano ich zdolność do unieczynniania stabilnych, syntetycznych rodników DPPH<sup>•</sup>. Metoda polegała na dodaniu związków przeciworodnikowych do metanolowego roztworu DPPH<sup>•</sup>, który w formie rodnikowej wykazuje absorbancję przy 517 nm. Wartość tej absorbancji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego [Song i in. 1999]. Wyniki porównano z oceną pomiaru inhibicji tych rodników przez syntetyczny przeciwutleniacz BHT. W pracy badano również wpływ dodatku preparatów polifenoli na proces autooksydacji roztworu kwasu linolowego. Obecne w mieszaninie reakcyjnej rodniki atakują cząsteczki kwasu linolowego, co powoduje ich degradację związaną z oderwaniem atomu wodoru. Proces ten sprzyja szybkiemu przyłączaniu cząsteczkowego tlenu z wytworze-

niem nadtlenków, których zawartość mierzy się spektrofotometrycznie [Chen i in. 1995, Tsuda i in. 1994]. W pracy oznaczono również ilość wtórnych produktów rozpadu nadtlenków [Foti i in. 1996]. Podstawą doświadczenia jest powstawanie barwnego adduktu w reakcji pomiędzy kwasem tiobarbiturowym (TBA) i niektórymi produktami peroksydacji lipidów (w tym głównie dialdehydu malonowego), którego stężenie oznacza się spektrofotometrycznie.

Zbadano również ochronny wpływ preparatów polifenoli na  $\beta$ -karoten, ulegający degradacji pod wpływem nadtlenków kwasu linolowego w układzie emulsyjnym [Gopy i in. 1999]. W doświadczeniu tym rodniki powstające z kwasu linolowego w procesie autooksydacji powodowały degradację cząsteczek  $\beta$ -karotenu, czego wynikiem było jego odbarwienie. W układach modelowych zastosowano trzy różne ilości preparatów polifenoli, a następnie obliczano ich aktywność przeciwutleniającą uwzględniając zawartość  $\beta$ -karotenu przed i po procesie utleniania. Wszystkie oznaczenia wykonywano w co najmniej trzech powtórzeniach.

## WYNIKI I DISKUSJA

W niniejszej pracy oznaczano zawartość polifenoli ogółem oraz zawartość tanin skondensowanych i antocyjanów. Zdecydowano się na oznaczenie tych dwóch grup polifenoli, ponieważ, według danych literaturowych, są to główne grupy polifenoli występujące w fasoli [Chung i in. 1998]. Wyniki przedstawiono w tabeli 1, w przeliczeniu na suchą masę.

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem, antocyjanów i tanin skondensowanych  
Table 1. The content of general polyphenols, anthocyanins and condensed tannins

Preparat Preparation	Polifenole ogółem mg/100 g s.m. General polyphenols mg/100 g d.w.	Antocyjany mg/100 g s.m. Anthocyanins mg/100 g d.w.	Taniny skondensowane mg/100 g s.m. Condensed tannins mg/100 g d.w.
PFB	44,5 ( $\pm 0,01$ ) <sup>b*</sup>	2,3 ( $\pm 0,26$ ) <sup>a</sup>	20,0 ( $\pm 0,60$ ) <sup>b</sup>
PFC	53,9 ( $\pm 0,04$ ) <sup>a</sup>	10,9 ( $\pm 0,07$ ) <sup>b</sup>	27,2 ( $\pm 0,21$ ) <sup>a</sup>
PFBł	25,7 ( $\pm 0,05$ ) <sup>c</sup>	nw	15,3 ( $\pm 0,16$ ) <sup>c</sup>

\*Wartości średnie w tej samej kolumnie oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie między sobą ( $\alpha = 0,05$ ).

nw – nie wykryto.

PFB – preparat z fasoli brązowej.

PFC – preparat z fasoli czerwonej.

PFBł – preparat z fasoli białej.

\*Mean values in the same column, which are denoted by different superscripts, differ statistically significantly between each other ( $\alpha = 0.05$ ).

nw – not detected.

PFB – preparation made of brown bean.

PFC – preparation made of red bean.

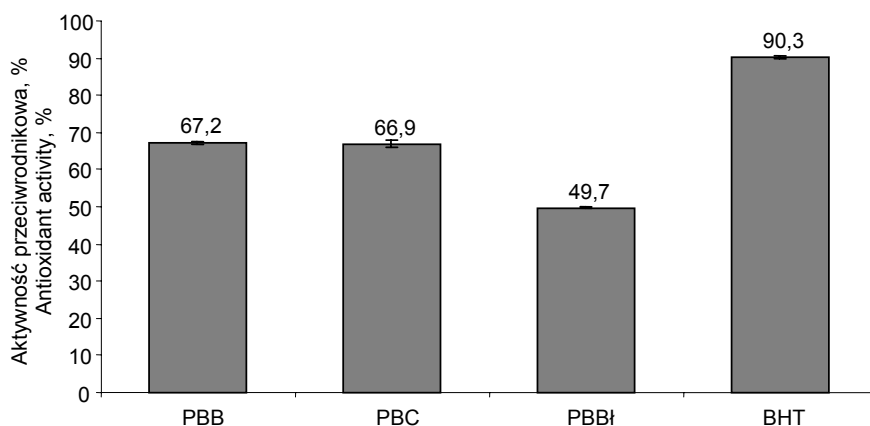
PFBł – preparation made of white bean.

Najwięcej polifenoli ogółem stwierdzono w preparacie z fasoli czerwonej (53,9 mg/100 mg). Zawartość tych związków w preparacie z okrywy fasoli brązowej była mniejsza i wynosiła 44,5 mg/100 mg suchej masy. Najmniej polifenoli ogółem zawierał preparat z fasoli białej (25,7 mg/100 mg).

We wszystkich preparatach dominowały taniny skondensowane. Największą ich zawartością (27,2 mg/100 mg s.m.) charakteryzował się preparat z fasoli czerwonej. Zawartość tanin skondensowanych w preparacie otrzymanym z okrywy brązowej była nieco mniejsza (20,0 mg/100 mg s.m.), a najmniej było ich w preparacie z okrywy fasoli białej (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 [Shahidi i Naczek 1989]. Najbardziej efektywną izolację związków polifenolowych z fasoli zapewnia zastosowany w pracy sposób ekstrakcji według Takeoki i in. [1997]. Do podobnych wniosków doszli również Siddhura-ju i Becker [2003], którzy porównywali skuteczność ekstrakcji za pomocą różnych mieszanin (woda, etanol-woda, metanol-woda, metanol-kwas solny, aceton-woda) i stwierdzili, że najwyższą wydajność procesu ekstrakcji polifenoli z roślin strączkowych i zbóż osiąga się za pomocą mieszaniny metanolu z 1-procentowym kwasem solnym. Trzeba jednak pamiętać, że zawartość tanin skondensowanych oznaczana metodami chemicznymi może być często obciążona błędem, co jest spowodowane chociażby stopniem polimeryzacji. Porównując ogólną zawartość tanin skondensowanych oznaczanych różnymi metodami chemicznymi, podawaną przez różnych autorów [Wil-ska-Jeszka i in. 1997], należy również zachować dużą ostrożność.

Antocyjany w badanych preparatach występowały na bardzo zróżnicowanym poziomie. Najwięcej tych polifenoli zaobserwowano w preparacie z okrywy nasiennej fasoli czerwonej (10,9 mg/100 mg), w preparacie z fasoli brązowej zidentyfikowano ich znacznie mniej (2,3 mg/100 mg), natomiast w preparacie z okrywy fasoli białej w ogóle nie stwierdzono ich obecności. Ma to oczywisty związek z intensywnością zabarwienia okrywy nasiennej.

Aktywność przeciwutleniającą badanych preparatów oznaczano metodą z wykorzystaniem rodników DPPH<sup>•</sup>. Wyniki przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Aktywność badanych preparatów wobec stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup>  
Fig. 1. Antioxidant activity of preparations against DPPH<sup>•</sup> radicals

Metoda polega na dodaniu związków przeciwrodnikowych do metanolowego roztworu DPPH<sup>•</sup>, który w formie rodnikowej wykazuje absorbancję przy 517 nm. Wartość tej absorbancji obniża się po dodaniu związku antyrodnikowego. Na podstawie otrzymanych wyników obliczono aktywność przeciwrodnikową polifenoli zawartych w preparatach w stosunku do rodników DPPH<sup>•</sup>. Otrzymane wartości porównano z wynikami pomiaru inhibicji tych rodników przez syntetyczny przeciwutleniacz BHT.

Najwyższą aktywność (90%) uzyskał przeciwutleniacz syntetyczny (BHT), natomiast aktywność przeciwrodnikowa preparatów zawierała się w przedziale 50-67%. Zauważono, że preparaty pochodzące z odmian fasoli kolorowych wykazywały większą zdolność zmiatania stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup> niż preparat z okrywy fasoli białej. Trzeba jednak zwrócić uwagę, że aktywność tego preparatu wynosiła blisko 50%, a więc obecne tam polifenole powodowały usunięcie ze środowiska reakcji około połowy rodników.

W pracy stwierdzono dobrą korelację pomiędzy zawartością tanin skondensowanych a zdolnością preparatów z fasoli brązowej i czerwonej do zmiatania rodników DPPH<sup>•</sup> (współczynniki korelacji powyżej 0,95). Można więc sądzić, że związki te posiadają najsilniejsze działanie inhibicyjne wobec rodników DPPH<sup>•</sup>. Wniosek ten znajduje potwierdzenie także w literaturze. Stasiak i Wilska-Jeszka [1999] stwierdziły, badając fasolę brązową i białą, że najwyższą aktywnością wobec rodników DPPH<sup>•</sup> charakteryzowały się polifenole okrywy nasiennej i całego ziarna 'Nidy' (fasola brązowa). W okrywie tej fasoli autorki stwierdziły także największą zawartość tanin skondensowanych. Również badania Saint-Cricq de Gaulejaca i in. [1999] potwierdzają, że najsilniej zmiatają rodniki DPPH<sup>•</sup> taniny skondensowane. Badania te prowadzono na okrywach czerwonych winogron, identyfikując polifenole za pomocą rezonansu paramagnetycznego i stwierdzono, że w tym materiale roślinnym właśnie taniny są odpowiedzialne za efekt zmiatania stabilnych rodników DPPH<sup>•</sup>.

W dalszej części pracy badano wpływ dodatku preparatów polifenoli na proces autooksydacji roztworu kwasu linolowego. Proces ten kontrolowano spektrofotometrycznie, oznaczając produkty dwóch etapów tej reakcji: nadtlenków kwasu linolowego i produktów ich rozpadu.

W próbie kontrolnej, praktycznie od początku procesu obserwowano gwałtowny wzrost zawartości nadtlenków. Przebieg tych zmian przypomina zniekształconą krzywą Gaussa, która osiąga swoje maksimum mniej więcej w połowie czasu trwania całego procesu utleniania. Nagły, początkowy wzrost tej krzywej jest związany z zapoczątkowaniem lawinowo przebiegającej reakcji rodnikowej. Obecne w mieszaninie reakcyjnej rodniki atakują cząsteczki kwasu linolowego, co powoduje ich degradację związaną z oderwaniem atomu wodoru. Proces ten sprzyja szybkiemu przyłączeniu cząsteczkowego tlenu z wytworzeniem nadtlenków, których zawartość mierzy się w omawianym doświadczeniu. Po osiągnięciu maksimum, zaobserwowano znaczny spadek tempa reakcji, co było związane z kolejnym etapem utleniania, jakim jest terminacja. W mieszaninie reakcyjnej następowała rekombinacja rodników oraz rozpad wodoronadtlenków do wtórnych produktów utleniania, co spowodowało nagły spadek ich zawartości. Proces nagłego zmniejszenia ilości nadtlenków w mieszaninie można również tłumaczyć utlenieniem całkowitej ilości kwasu linolowego w pierwszym etapie reakcji powodującym brak substratu dla tej reakcji. Należy jednak zaznaczyć, że zawartość nadtlenków, pomimo ich rozpadu, nie utrzymywała się na stałym poziomie, ponieważ powstające w wyniku reakcji autooksydacji nadtlenki nie są ostatecznym produktem tej reakcji.

Dodatek preparatów polifenoli w znacznym stopniu hamował proces autooksydacji kwasu linolowego i przeciwdziałał powstawaniu nadtlenków. Podobny efekt uzyskano używając syntetycznego przeciwutleniacza – BHT. W próbkach zawierających badane preparaty zawartość nadtlenków utrzymywała się na stałym poziomie. Aktywność przeciwutleniająca preparatów (tab. 2) była zbliżona, choć preparat z fasoli białej był minimalnie mniej aktywny, co można tłumaczyć ogólnie mniejszą zawartością tanin skondensowanych w tym preparacie. Nie stwierdzono jednak statystycznej korelacji.

Tabela 2. Aktywność przeciwutleniająca preparatów wobec nadtlenków i produktów rozpadu nadtlenków kwasu linolowego

Table 2. Antioxidant activity against peroxy radicals and secondary decomposition products

Preparat Preparation	Aktywność przeciwutleniająca, % Antioxidant activity, %	
	nadtlenki peroxy radicals	produkty rozpadu decomposition products
PFB	87,2 (± 2,25)	87,0 (± 5,20)
PFC	86,6 (± 1,78)	84,9 (± 3,25)
PFBł	83,1 (± 5,21)	77,9 (± 6,11)
BHT	96,1 (± 0,29)	89,2 (± 0,65)

Podobną zależność zauważyli Tsuda i in. [1994], badając preparaty uzyskane z okryw nasiennych fasoli białej, czarnej i czerwonej. Jako próbkę odniesienia zastosowali  $\alpha$ -tokoferol, którego aktywność przeciwutleniająca wobec kwasu linolowego wynosiła w tym doświadczeniu 80%. Stwierdzili, że preparaty z fasoli czarnej i czerwonej mają bardzo zbliżoną aktywność, wynoszącą około 85%, natomiast preparat uzyskany z fasoli białej charakteryzuje się nieco gorszymi właściwościami antyoksydacyjnymi (70%). Wyniki te pokrywają się więc z wynikami uzyskanymi w niniejszej pracy.

W pracy przebadano również zmiany zawartości produktów rozpadu nadtlenków kwasu linolowego, wyrażonych jako zawartość dialdehydu malonowego (ang. malondialdehyde – MDA).

Podstawą tego doświadczenia jest powstawanie barwnego adduktu w reakcji pomiędzy kwasem tiobarbiturowym (TBA) i niektórymi produktami peroksydacji lipidów (w tym głównie MDA), którego stężenie oznacza się spektrofotometrycznie. W próbce kontrolnej widoczny jest wzrost produktów rozpadu nadtlenków kwasu linolowego do 14 dnia inkubacji, po czym zawartość dialdehydu malonowego wyraźnie maleje. Efekt taki jest związany prawdopodobnie z dalszymi przemianami wtórnych produktów utleniania, ponieważ nie oznacza się tutaj całkowitej ich ilości, a jedynie substancje reagujące z TBA. Na podstawie badań stwierdzono, że produkty peroksydacji lipidów, które powstają w żywności, reagują z kwasem tiobarbiturowym w różnym stopniu. Gdyby w trakcie inkubacji następował rozpad tych produktów lub ich kondensacja, mogłoby to prowadzić do zmniejszenia zawartości wtórnych produktów utleniania [Lapenna i in. 2001]. Jak podają Chen in. [1996], całkowita ilość wtórnych produktów utleniania, mierzona za pomocą chromatografii cieczowej, po początkowym wzroście utrzymuje się na względnie stałym poziomie w końcowym okresie inkubacji.

Dodatek badanych preparatów polifenoli, podobnie jak w przypadku nadtlenków kwasu linolowego, hamował tworzenie się wtórnych produktów rozpadu. Efekt ten jest konsekwencją poprzedniego doświadczenia, gdyż zahamowanie powstawania nadtlenków kwasu linolowego powoduje również ograniczone powstawanie produktów ich rozpadu (czyli substancji reagujących z TBA). Hamujące działanie wobec powstawania wtórnych produktów utleniania kształtowało się na tym samym poziomie we wszystkich badanych preparatach i było bardzo zbliżone do aktywności próbki z dodatkiem BHT. Nie zaobserwowano w tym doświadczeniu słabszej aktywności preparatu otrzymanego z fasoli białej, co było widoczne przy powstawaniu nadtlenków.

Porównując aktywności badanych preparatów wobec wtórnych produktów rozpadu nadtlenków kwasu linolowego stwierdzono, że podobnie jak w przypadku nadtlenków, najslabszą aktywność wykazywał preparat z fasoli białej, natomiast aktywność pozostałych preparatów kształtowała się na podobnym poziomie. Największą aktywnością wobec wtórnych produktów rozpadu charakteryzował się, tak jak w przypadku nadtlenków, BHT. Należy jednak zauważyć, że aktywność ta nie różniła się tak znacznie od aktywności badanych preparatów jak w wypadku hamowania tworzenia się nadtlenków kwasu linolowego.

Kolejnym etapem pracy było badanie ochronnego wpływu preparatów polifenoli na  $\beta$ -karoten, ulegający degradacji pod wpływem nadtlenków kwasu linolowego w układzie emulsyjnym. W doświadczeniu tym rodniki powstające z kwasu linolowego w procesie autooksydacji powodowały degradację cząsteczek  $\beta$ -karotenu, czego wynikiem było jego odbarwienie. W układach modelowych zastosowano trzy różne ilości preparatów polifenoli, a następnie obliczano ich aktywność przeciwutleniającą, uwzględniając zawartość  $\beta$ -karotenu przed i po procesie utleniania. Wyniki zamieszczono w tabeli 3.

Tabela 3. Aktywność przeciwutleniająca preparatów polifenoli wobec  $\beta$ -karotenu w procesie autooksydacji kwasu linolowego

Table 3. Protecting activity of polyphenol preparations on  $\beta$ -carotene in linoleic acid autooxidation process

Preparat Preparation	Aktywność przeciwutleniająca, % Antioxidant activity, %		
	dodatek – additive		
	7 mg%	10 mg%	30 mg%
PFB	57,7 ( $\pm 0,62$ ) <sup>a*</sup>	64,3 ( $\pm 0,42$ ) <sup>b</sup>	36,9 ( $\pm 0,50$ ) <sup>c</sup>
PFC	61,9 ( $\pm 0,50$ ) <sup>a</sup>	73,6 ( $\pm 0,57$ ) <sup>b</sup>	43,2 ( $\pm 0,34$ ) <sup>c</sup>
PFBł	29,9 ( $\pm 0,29$ ) <sup>a</sup>	30,3 ( $\pm 0,45$ ) <sup>a</sup>	17,4 ( $\pm 0,45$ ) <sup>b</sup>
BHT	–	85,1 ( $\pm 0,26$ ) <sup>a</sup>	83,7 ( $\pm 0,79$ ) <sup>a</sup>

\*Wartości średnie w tych samych wierszach oznaczone różnymi indeksami różnią się istotnie statystycznie między sobą ( $\alpha = 0,05$ ).

\*Mean values in the same row, which are denoted by different superscripts, differ statistically significantly between each other ( $\alpha = 0.05$ ).

Z przedstawionych danych wynika, że  $\beta$ -karoten był chroniony najlepiej przez dodatek preparatu polifenoli z fasoli czerwonej. Aktywność przeciwutleniająca tego preparatu była najwyższa, gdy dodatek wyniósł 10 mg% i tylko o 4% gorsza z dodatkiem 7 mg%. Wartości te jednak statystycznie różniły się istotnie między sobą. Wysoką aktywność wykazywał również preparat uzyskany z fasoli brązowej (64%). Jego aktywność była również najlepsza wtedy, gdy jego dodatek wynosił 10 mg%. Najslabszym działaniem w tym doświadczeniu charakteryzował się preparat z fasoli białej (30%). Należy zauważyć, że aktywność wszystkich preparatów była najwyższa gdy dodatek wynosił 10 mg% i wyraźnie obniżała się wraz ze zwiększaniem się ich dodatku w emulsji. Podsumowując,  $\beta$ -karoten był najlepiej chroniony przez dodatek 10 mg% preparatu z fasoli czerwonej, a aktywność tego preparatu była tylko nieznacznie gorsza od aktywności, jaką wykazywał syntetyczny przeciwutleniacz – BHT (85%) dodany w takiej samej ilości.

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy znajdują potwierdzenie w literaturze. Peterson i in. [2001] badając ekstrakty z owsa stwierdzili, że polifenole w nich zawarte wykazują aktywność przeciwutleniającą wobec  $\beta$ -karotenu w układzie emulsyjnym z kwasem linolowym, rzędu 55%. W badaniach Wettasinghe i Shahidi [1999]  $\beta$ -karoten najlepiej chroniony był również przez preparat syntetyczny – BHA, natomiast ekstrakt polifenoli z wiesiołka dodany w ilości 100 ppm wykazywał tylko nieznacznie gorsze działanie. Siddhuraju i Becker [2003] badali skład polifenoli w hinduskiej odmianie rzodkwi i stwierdzili, że preparaty te wykazują aktywność przeciwutleniającą wobec  $\beta$ -karotenu, wynoszącą 65%.

## WNIOSKI

1. Wszystkie preparaty polifenoli otrzymane z okryw nasion fasoli wykazywały właściwości przeciwutleniające w badanych układach modelowych.
2. Preparaty otrzymane z okrywy nasion fasoli czerwonej i brązowej wykazywały lepszą zdolność do dezaktywacji rodników niż preparat z fasoli białej.
3. Zastosowany dodatek preparatów polifenoli częściowo hamował degradację  $\beta$ -karotenu w procesie utleniania.
4. W składzie wszystkich badanych preparatów stwierdzono dominację tanin skondensowanych.

## PIŚMIENICTWO

- Chen H.M., Muramoto K., Yamauchi F., 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean  $\beta$ -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.* 43, 574-578.
- Chen H.M., Muramoto K., Yamauchi F., Nokihara K., 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.* 44, 2619-2623.
- Chung H.Y., Yokozawa T., Soung D.Y., Kye I.S., No J.K., Baek B.S., 1998. Peroxynitrite-scavenging activity of green tea tannin. *J. Agric. Food Chem.* 46, 4484-4486.



- Foti M., Piatelli M., Baratta M.T., Ruberto G., 1996. Flavonoids, coumarins, and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure – activity relationship. *J. Agric. Food Chem.* 44, 497-501.
- Goupy P., Hugues M., Borin P., Amiot M.J., 1999. Antioxidant activity of barley and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *J. Sci. Food Agric.* 79, 1625-1634.
- Lapenna D., Ciofani G., Pierdomenico S.D., Giamberardino M.A., Cuccurullo F., 2001. Reaction conditions affecting the relationship between TBA reactivity and lipid peroxides in human plasma. *Free Rad. Biol. Med.* 31, 331-335.
- Peterson D.W., Emmons C.L., Hibbs A.H., 2001. Phenolic antioxidants and antioxidant activity in pearling fractions of oat groats. *J. Cereal Sci.* 33, 97-103.
- Price M.L., Van Scoyoc S., Butler L.G., 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 26, 1214-1218.
- Saint-Cricq de Gaulejac N., Provost C., Vivas N., 1999. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods. *J. Agric. Food Chem.* 47, 425-431.
- Shahidi F., Naczki M., 1989. Effect of processing on the content of condensed tannins in rapeseed meals. *J. Food Sci.* 4, 1082-1083.
- Siddhuraju P., Becker K., 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera*) leaves. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2144-2155.
- Simonetti P., Pietta P., Testolin G., 1997. Polyphenol content and total antioxidant potential of selected Italian wines. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1150-1155.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.
- Song T.T., Hendrich S., Murphy P.A., 1999. Estrogenic activity of glycitein, a soy isoflavone. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1607-1610.
- Stasiak A., Wilska-Jeszka J., 1999. Charakterystyka tanin występujących w nasionach roślin fasoli. W: XXX Sesja Naukowa KTiChZ, streszczenia komunikatów. Kraków.
- Swain T., Hillis W., 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. *J. Sci. Food Agric.* 1, 63-68.
- Takeoka G.R., Dao L.T., Full G.H., Wong R.Y., Harden L.A., Edwards R.H., Berrios J., 1997. Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3395-3400.
- Tsuda T., Ohshima K., Kawakishi S., Osawa T., 1994. Antioxidative pigments isolated from the seeds of *Phaseolus vulgaris* L. *J. Agric. Food Chem.* 42, 248-251.
- Wang S.Y., Lin H-S., 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivars and developmental stage. *J. Agric. Food Chem.* 48, 140-146.
- Wang H., Provan G.J., Helliwell K., 2000. Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. *Trends Food Sci. Technol.* 11, 152-160.
- Wettasinghe M., Shahidi F., 1999. Evening promote meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1801-1812.
- Wilska-Jeszka J., Pośdek A., Anders B., 1997. Ocena porównawcza metod oznaczania tanin skondensowanych. W: XVIII Sesja Naukowa KTiChZ PAN, Gdańsk, 299.
- Wilska-Jeszka J., Stasiak A., 1994. Polyphenol compounds in grain legumes. Bioactive substances in food of plant origin. W: Materials of the International Euro Food Tox IV Conference, 22-24 September, Olsztyn, 1, 126-130.

**CHARACTERISTIC OF POLYPHENOL PREPARATIONS OBTAINED FROM THE SEED COATS OF BROWN, RED AND WHITE BEANS AND THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY**

**Summary.** The objective of this work was to study antioxidative properties of the preparations obtained from the seed coats of brown, red and white beans. To make the preparations, polyphenols were extracted using a 0.5% HCl solution in methanol, condensed under the vacuum conditions and lyophilized. In order to provide a chemical profile of the preparations obtained, the content of general polyphenols, condensed tannins and anthocyanins were determined. The antioxidative properties were determined in the presence of DPPH• radicals, peroxy radicals and their secondary decomposition products. Polyphenol preparation protecting activity on  $\beta$ -carotene was determined too. All the preparation exhibited antioxidant activity against peroxy radicals (83-87%), secondary decomposition products (78-87%) and DPPH• radicals (50-67%). All the preparations protected  $\beta$ -carotene from peroxy radicals degradation. The preparations extracted from color beans developed the strongest antioxidative activity. This fact could be attributed to the higher contents of polyphenols in these preparations.

**Key words:** polyphenols, antioxidant activity, peroxy radicals, DPPH• radicals

*Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 5.09.2005 r.*

**Do cytowania – For citation:** Drużyńska B., Klepacka M., 2005. Charakterystyka preparatów polifenoli otrzymanych z okrywy nasiennej fasoli czerwonej, brązowej i białej i ich właściwości przeciwutleniające. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 4(2), 119-128.