

JAROSŁAW KORUS

Katedra Technologii Węglowodanów
Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja w Krakowie

WPLYW NAPROMIENIANIA SUCHYCH NASION FASOLI (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) PROMIENIAMI GAMMA NA ZAWARTOŚĆ POLIFENOLI ORAZ AKTYWNOŚĆ ANTYRODNIKOWĄ

Streszczenie. Nasiona pięciu odmian fasoli poddano działaniu promieni gamma w dawkach 3 i 10 kGy. W etanolowych ekstraktach z nasion oznaczono zawartość polifenoli ogółem, flawonoli, antocyjanów i tanin skondensowanych. Oznaczono także aktywność antyrodnikową ekstraktów wobec DPPH metodą Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego. Napromienianie suchych nasion fasoli stosowanymi dawkami praktycznie nie wpłynęło na zawartość polifenoli ogółem, spowodowało natomiast zmniejszenie ilości flawonoli i antocyjanów oraz w niewielkim zakresie tanin. Napromienianie nasion fasoli wpłynęło na dynamikę zmiatania wolnych rodników. Niezależnie od dawki promieniowania ekstrakty z nasion poddanych napromienianiu zmiatały szybciej wolne rodniki DPPH niż ekstrakty z nasion nie poddanych napromienianiu, jednak całkowita aktywność antyrodnikowa ekstraktów z nasion napromienionych i nie poddanych radiacji mierzona po 60 min była zbliżona.

Słowa kluczowe: fasola, napromienianie, polifenole, aktywność antyrodnikowa

Wstęp

Pod względem wielkości wykorzystania na cele konsumpcyjne i paszowe nasiona roślin strączkowych są drugą grupą po zbożach. Są one dobrym źródłem białka (zawierają go około dwóch-trzech razy więcej niż zboża), błonnika pokarmowego oraz, w mniejszym stopniu, soli mineralnych i witamin z grupy B (AL-KAISEY i IN. 2003). W krajach rozwijających się nasiona fasoli są jednym z głównych źródeł białka w diecie (VILLAVICENCIO i IN. 2000 b). W celu zapobiegania sięgającym 30% stratom podczas przechowywania, powodowanym przez insekty, można stosować napromienianie nasion (VILLAVICENCIO i IN. 2000 a, FARKAS 2006). Według bazy danych Food Irradiation

Clearances Database, prowadzonej przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej (<http://nucleus.iaea.org/FICDB/Browse.aspx>), ponad 50 państw dopuszcza stosowanie napromieniania różnych produktów spożywczych, w tym mniej więcej 25 w odniesieniu do nasion roślin strączkowych. Ta technika może być alternatywą wobec chemicznego konserwowania nasion, chociaż powoduje pewne zmiany w żywności. Promienie gamma powodują m.in. zmiany konformacji cząsteczek, rozrywanie wiązań kowalencyjnych, tworzenie wolnych rodników i zmiany oksydacyjne (DOGBEVI i IN. 2000, VIL-LAVICENCIO i IN. 2000 a, MOLEND A 2007, ŠTAJNER i IN. 2009). Występujące w nasionach fasoli polifenole należą do naturalnych antyutleniaczy. Spożywanie ich ma pozytywny wpływ na zdrowie, gdyż w organizmie zmiatają wolne rodniki, wykazują także zdolność chelatowania metali katalizujących reakcje utleniania, aktywują enzymy antyoksydacyjne itp. (OOMAH i IN. 2005, SCALBERT i IN. 2005, HARRISON i WERE 2007).

Celem pracy było stwierdzenie, jak napromienianie suchych nasion fasoli promieniami gamma wpływa na zawartość polifenoli oraz aktywność antyrodnikową nasion.

Material i metody

Do badań wykorzystano suche nasiona pięciu polskich odmian fasoli: ‘Augusta’, ‘Rawela’, ‘Nigeria’, ‘Tip-Top’ i ‘Toffi’, pochodzących z hodowli twórczej Zakładu Hodowli i Nasiennictwa Ogrodniczego PlantiCo w Szymanowie. Napromienienia dwiema dawkami promieni gamma: 3 i 10 kGy, z użyciem radioizotopu ^{60}Co , dokonano w Międzyresortowym Instytucie Techniki Radiacyjnej Politechniki Łódzkiej.

Ekstrakty do badań sporządzono przez gotowanie rozdrobnionej próbki w 80-procentowym etanolu w ciągu 1 h. Po odwirowaniu ekstrakty przechowywano w temperaturze -20°C . Zawartość polifenoli ogółem, flawonoli i antocyjanów oznaczono metodą spektrofotometryczną według OOMAHA i IN. (2005). Zawartość tanin skondensowanych oznaczono spektrofotometrycznie metodą wanilinową według HEIMLER i IN. (2005). Zawartość polifenoli i tanin wyrażono w przeliczeniu na katechinę, flawonoli – w przeliczeniu na kwercetynę, antocyjanów – w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd.

Aktywność antyoksydacyjną mierzono metodą Elektronowego Rezonansu Paramagnetycznego (EPR), za pomocą spektrometru działającego w paśmie L (1,2 GHz), wyposażonego w rezonator typu cewki powierzchniowej o częstotliwości około 12 MHz, przestrajanego w zakresie od -12 do $+12$ MHz za pomocą diod waraktorowych w układzie z automatyczną stabilizacją częstotliwości. Podczas pomiarów utrzymywano następujące ustawienia spektrometru: maksymalna moc mikrofal – 16 mW, amplituda modulacji – 2,2 Gs, stała czasowa detektora fazoczułego – 20 ms, częstotliwość modulacji pola – 33 kHz, przemiatanie pola – 100 Gs. Jako sondy paramagnetycznej użyto metanolowego roztworu DPPH (0,33 mmol/l), który w objętości 750 μl dodawano do 250 μl ekstraktu badanego materiału. Czas pojedynczego przemiatania pola ustalono na 20 s.

Przedstawione wyniki są wartościami średnimi z czterech powtórzeń. W celu oceny istotności różnic wyniki poddano analizie wariancji za pomocą testów: F Snedecora i t Studenta. Najmniejszą istotną różnicę (NIR) obliczano na poziomie $p = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wpływ napromieniania na zawartość polifenoli ogółem był stosunkowo niewielki (tab. 1). Po zastosowaniu mniejszej dawki zawartość polifenoli zmniejszyła się średnio o 7%, po zastosowaniu zaś wyższej – nie uległa zmianie. Zawartość flawonoli zmniejszyła się pod wpływem napromieniania. Również w tym przypadku, mniejsze zmiany spowodowała dawka 10 kGy – średnio straty wyniosły 17%, natomiast dawka 3 kGy spowodowała zmniejszenie ilości omawianej grupy antyoksydantów o 25%. Największe straty wywołane promieniowaniem gamma zanotowano w przypadku antocyjanów. W nasionach napromienionych dawką 3 kGy stwierdzono średnio o 43% mniej antocyjanów niż w surowcu, natomiast nasiona wszystkich badanych odmian fasoli poddane działaniu dawki 10 kGy zawierały średnio o 33% mniej antocyjanów. Podobnie jak w przypadku polifenoli ogółem, wpływ radiacji miał niewielki wpływ na zawartość tanin. W nasionach poddanych działaniu dawki 3 kGy odnotowano średnio o 6% mniej tych składników, a w nasionach napromienionych dawką 10 kGy – o 2% mniej. Wartości współczynnika zmienności wskazują na większą zmienność powodowaną cechami odmianowymi niż stosowaną obróbką (dawką promieniowania).

Tabela 1. Zawartość polifenoli ogółem, flawonoli, antocyjanów i tanin skondensowanych w surowcu i napromienionych nasionach fasoli (mg/g s.m.)

Table 1. Content of total phenolics, flavonols, anthocyanins and condensed tannins in raw and irradiated bean seeds (mg/g d.m.)

Próbka	Odmiany					Średnia	Współczynnik zmienności (%)
	'Augusta'	'Nigeria'	'Rawela'	'Tip-Top'	'Toffi'		
1	2	3	4	5	6	7	8
Polifenole ogółem							
Surowiec	8,94 ±0,56	8,59 ±0,67	10,06 ±0,31	8,10 ±0,56	6,84 ±0,12	8,51 b	13,85
3 kGy	8,30 ±1,30	7,94 ±0,48	8,70 ±0,46	7,94 ±0,12	6,63 ±0,53	7,90 a	9,84
10 kGy	9,59 ±0,54	8,43 ±0,27	9,63 ±0,54	8,05 ±0,07	6,78 ±0,34	8,50 b	13,96
Średnia	8,94 bc	8,32 b	9,46 c	8,03 b	6,75 a		
Współczynnik zmienności (%)	7,21	4,07	7,35	1,02	1,60		
Flawonole							
Surowiec	0,22 ±0,01	0,26 ±0,02	0,51 ±0,02	0,11 ±0,01	0,09 ±0,01	0,24 b	70,65
3 kGy	0,17 ±0,04	0,21 ±0,01	0,42 ±0,02	0,08 ±0,01	0,04 ±0,01	0,18 a	80,67
10 kGy	0,20 ±0,01	0,22 ±0,01	0,44 ±0,03	0,10 ±0,01	0,06 ±0,01	0,20 a	72,51
Średnia	0,20 c	0,23 d	0,46 e	0,10 b	0,06 a		
Współczynnik zmienności (%)	12,80	11,50	10,35	15,80	39,74		

Tabela 1 – cd. / Table 1 – cont.

1	2	3	4	5	6	7	8
Antocyjany							
Surowiec	0,15 ±0,02	0,39 ±0,02	0,18 ±0,02	0,21 ±0,01	0,13 ±0,01	0,21 c	49,07
3 kGy	0,08 ±0,02	0,31 ±0,04	0,04 ±0,01	0,15 ±0,01	0,03 ±0,02	0,12 a	94,42
10 kGy	0,09 ±0,02	0,35 ±0,02	0,07 ±0,01	0,17 ±0,01	0,04 ±0,01	0,14 b	86,68
Średnia	0,11 b	0,35 d	0,10 b	0,18 c	0,07 a		
Współczynnik zmienności (%)	35,49	11,43	76,25	17,29	82,61		
Taniny skondensowane							
Surowiec	1,06 ±0,15	1,41 ±0,07	0,79 ±0,04	1,92 ±0,21	2,01 ±0,20	1,44 b	36,85
3 kGy	0,88 ±0,10	1,37 ±0,12	0,70 ±0,08	1,83 ±0,14	1,95 ±0,22	1,35 a	41,27
10 kGy	0,97 ±0,09	1,45 ±0,10	0,72 ±0,05	1,86 ±0,09	2,03 ±0,12	1,41 b	39,89
Średnia	0,97 ab	1,41 bc	0,74 a	1,87 cd	2,00 d		
Współczynnik zmienności (%)	9,28	2,84	6,42	2,45	2,09		

Średnie w poszczególnych kolumnach lub rzędach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p = 0,05$).

W większości przypadków końcowy (po 60 min) stopień zredukowania rodnika DPPH przez ekstrakty z nasion napromienionych był zbliżony do stwierdzonego w przypadku ekstraktów z surowca (tab. 2), z kolei ekstrakty z napromienionych nasion fasoli wykazywały dużo większą dynamikę początkową zmiatania znacznika spinowego w porównaniu z ekstraktami z surowca, z wyjątkiem odmiany 'Rawela' (rys. 1). Ekstrakty z nasion poddanych działaniu mniejszej dawki promieni γ szybciej zmiatały

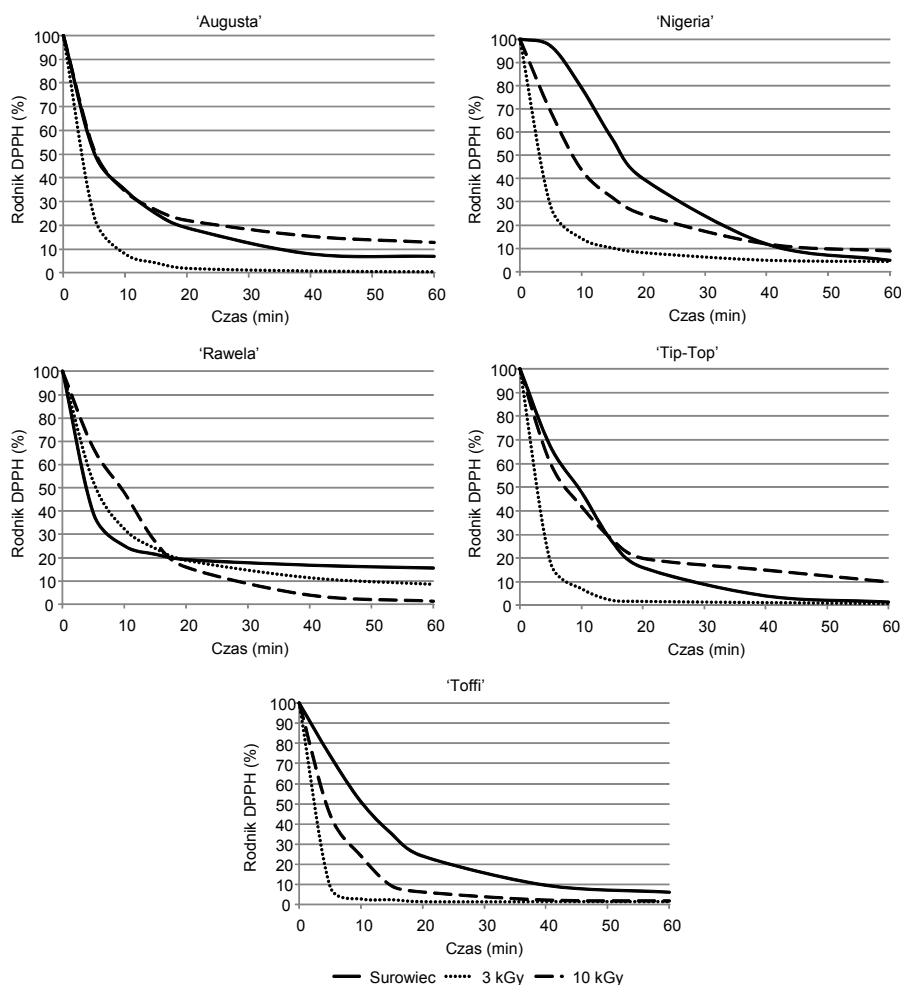
Tabela 2. Aktywność antyrodnikowa surowca oraz napromienionych nasion fasoli
Table 2. Antiradical activity of raw and irradiated bean seeds

Próbka	Odmiany									
	'Augusta'		'Nigeria'		'Rawela'		'Tip-Top'		'Toffi'	
	EPR	TEAC	EPR	TEAC	EPR	TEAC	EPR	TEAC	EPR	TEAC
Surowiec	93 a	75 a	95 b	76 b	97 b	78 b	99 b	79 b	94 a	76 a
3 kGy	100 b	80 b	96 b	77 b	84 a	67 a	99 b	80 b	99 b	79 b
10 kGy	87 a	70 a	91 a	73 a	91 b	73 b	90 a	72 a	98 b	79 b

EPR – procent redukcji rodnika DPPH po 60 min.

TEAC – ang. *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (μM Troloksu w 1 g próbki po 60 min).

Średnie w poszczególnych kolumnach oznaczone tymi samymi literami nie różnią się statystycznie ($p = 0,05$).



Rys. 1. Dynamika zmiatania rodnika DPPH przez ekstrakty nasion fasoli
Fig. 1. Kinetics of DPPH radicals scavenging by bean seeds extracts

rodniki DPPH niż ekstrakty uzyskane z nasion napromienionych większą dawką. Przykładowo: średni stopień zredukowania sondy paramagnetycznej przez ekstrakty z nasion nienapromienionych wszystkich odmian wyniósł po 5 min 24%, a w przypadku ekstraktów napromienionych dawkami 3 kGy i 10 kGy – odpowiednio 75% i 44%. Po 10 min odpowiednie wartości kształtowały się następująco: 45%, 88% i 65%, a po 15 min – 62%, 92% i 76%. Końcowy stopień redukcji rodników DPPH wynosił odpowiednio 95%, 95% i 91%.

VILLAVICENCIO i IN. (2000 b) nie stwierdzili istotnego wpływu promieni gamma do dawki 10 kGy na zawartość polifenoli w nasionach badanej przez nich odmiany fasoli. Autorzy ci odnotowali jednak istotny spadek zawartości tanin, już powyżej dawki 2,5 kGy (11-22%). Podobne zależności odnotowano w niniejszych badaniach, choć

straty tanin nie były tak duże (2-6%). AHN i IN. (2004) stwierdzili z kolei zmniejszenie zawartości polifenoli w napromienianej rzepie (*Brassica rapa*), a ADAMO i IN. (2004) – w truflach. XUETONG (2005) odnotował w wyniku napromieniania dawkami 0,5-2 kGy wzrost zawartości polifenoli i wzrost aktywności antyoksydacyjnej w endywi i sałacie, a MOUSSAID i IN. (2004) – wzrost zawartości polifenoli w skórkach pomarańczy wraz ze wzrostem dawki promieniowania w zakresie 1-2 kGy. Podobnie, HARRISON i WERE (2007) stwierdzili wzrost zawartości polifenoli o 45% w skórkach migdałów poddanych działaniu promieni gamma w dawkach powyżej 4 kGy i o 20% przy stosowaniu dawek powyżej 12 kGy. Autorzy ci przypisują to uwalnianiu polifenoli z połączeń glikozydowych i rozkładowi związków wysokocząsteczkowych z uwolnieniem niskocząsteczkowych polifenoli. Opisane powyżej rozbieżności w badaniach różnych autorów dotyczące wpływu promieni gamma na zawartość składników polifenolowych można tłumaczyć odmiennym składem tej dużej grupy związków w różnych warzywach. Na przykład taniny hydrolizujące są podatne na rozkład pod wpływem promieniowania gamma, co skutkuje zwiększeniem ilości oznaczanych polifenoli, natomiast taniny skondensowane, które dominują w fasoli, nie ulegają hydrolizie i w warzywach zawierających głównie te związki nie obserwuje się zwiększenia ilości polifenoli po napromienieniu (DRUŻYŃSKA i KLEPAČKA 2005, HARRISON i WERE 2007). Ponadto HARRISON i WERE (2007) stwierdzili większą zdolność zmiatania rodnika ABTS przez ekstrakty z napromienionych skórek migdałów niż przez ekstrakty ze skórek nienapromienionych. Czas trwania analizy wynosił 6 min. Wynik ten znajduje potwierdzenie w niniejszych badaniach, w których także obserwowano większą początkową dynamikę zmiatania rodnika DPPH przez ekstrakty z nasion fasoli poddanych działaniu promieni gamma. Może to wynikać ze stymulującego działania radiacji na aktywność niektórych związków polifenolowych. AHN i IN. (2004) stwierdzili, że kwas fitynowy poddany napromienianiu dawkami 10 i 20 kGy wykazywał istotnie większą aktywność antyoksydacyjną niż przed napromienieniem. W nasionach fasoli kwas fitynowy występuje w dość znacznych ilościach (MÁÑEZ i IN. 2002) i dlatego mógł mieć swój udział w wyraźnie większej aktywności antyrodnikowej ekstraktów z nasion napromienionych. KIM i IN. (2009) obserwowali wzrost zawartości polifenoli i zdolności zmiatania rodnika DPPH w kminiku napromienianym do dawki 3-5 kGy, natomiast dalsze zwiększanie dawki do 10 kGy powodowało zmniejszenie zawartości tych składników i zarazem stopnia redukcji DPPH. Podobne zależności pomiędzy dawką promieniowania a zawartością polifenoli i aktywnością antyoksydacyjną obserwowali wcześniej HARRISON i WERE (2007). Można to tłumaczyć rozkładem niektórych związków polifenolowych przez większe dawki promieniowania gamma.

Wnioski

1. Napromienianie suchych nasion fasoli dawkami 3 i 10 kGy praktycznie nie wpłynęło na zawartość polifenoli ogółem, spowodowało natomiast zmniejszenie ilości flawonoli i antocyjanów oraz w niewielkim zakresie tanin.

2. Biorąc pod uwagę wartości współczynnika zmienności i zawartość polifenoli ogółem, okazało się, iż najmniej podatna na radiację była odmiana 'Tip-Top', a najbardziej – 'Rawela'.

3. Napromienianie nasion fasoli wpłynęło na dynamikę zmiatania wolnych rodników. Niezależnie od dawki promieniowania ekstrakty z nasion napromieniowanych szybciej zmiatały wolne rodniki DPPH niż ekstrakty z nasion nie poddanych napromienianiu.

4. Całkowita aktywność antyrodnikowa ekstraktów z nasion napromienionych i nie poddanych radiacji mierzona po 60 min była zbliżona.

Literatura

- ADAMO M., CAPITANI D., MANNINA L., CRISTINZIO M., RAGNI P., TATA A., COPPOLA R., 2004. Truffles decontamination treatment by ionizing radiation. *Radiat. Phys. Chem.* 71: 165-168.
- AHN H.J., KIM J.H., JO C., KIM M.-J., BYUN M.W., 2004. Comparison of irradiated phytic acid and other antioxidants for antioxidant activity. *Food Chem.* 88: 173-178.
- AHN H.J., KIM J.H., KIM J.K., KIM D.H., YOON H.S., BYUN M.W., 2005. Combined effects of irradiation and modified atmosphere packaging on minimally processed Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *Food Chem.* 89: 589-597.
- AL-KAISEY M.T., ALWAN A.-K.H., MOHAMMAD M.H., SAEED A.H., 2003. Effect of gamma irradiation on antinutritional factors in broad bean. *Radiat. Phys. Chem.* 67: 493-496.
- DOGBEVI M.K., VACHON C., LACROIX M., 2000. Effect of gamma irradiation on the microbiological quality and on the functional properties of proteins in dry red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Radiat. Phys. Chem.* 57: 265-268.
- 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.
- FARKAS J., 2006. Irradiation for better foods. *Trends Food Sci. Technol.* 17: 148-152.
- HARRISON K., WERE L.M., 2007. Effect of gamma irradiation on total phenolic content yield and antioxidant capacity of Almond skin extracts. *Food Chem.* 102: 932-937.
- HEIMLER D., VIGNOLINI P., DINI M.G., ROMANI A., 2005. Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *J. Agric. Food Chem.* 53: 3053-3056.
- KIM J.H., SHIN M.-H., HWANG Y.-J., SRINIVASAN P., KIM J.K., PARK H.J., BYUN M.W., LEE J.W., 2009. Role of gamma irradiation on the natural antioxidants in cumin seeds. *Radiat. Phys. Chem.* 78: 153-157.
- MÁÑEZ G., ALEGRÍA A., FARRÉ R., FRÍGOLA R., 2002. Effect of traditional, microwave and industrial cooking on inositol phosphate content in beans, chickpeas and lentils. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 53: 503-508.
- MOLENDĄ J., 2007. Wybrane niekonwencjonalne metody utrwalania żywności. *Med. Wet.* 63, 9: 1016-1020.
- MOUSSAID M., CAILLET S., NKETSIA-TABIRI J., BOUBEKRI S., LACROIX M., 2004. Phenolic compounds and the colour of oranges subjected to a combination treatment of waxing and irradiation. *J. Sci. Food Agric.* 84: 1625-1631.
- OOMAH B.D., CARDADOR-MARTINEZ A., LOARCA-PIÑA G., 2005. Phenolics and antioxidative activities in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *J. Sci. Food Agric.* 85: 935-942.
- SCALBERT A., JOHNSON I.T., SALMARSH M., 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr.* 81 (suppl.): 215S-217S.
- ŠTAJNER D., POPOVIĆ B.M., TAŠKI K., 2009. Effects of γ -irradiation on antioxidant activity in soybean seeds. *Cent. Eur. J. Biol.* 4, 3: 381-386.
- VILLAVICENCIO A.L.C.H., MANCINI-FILHO J., DELINCÉE H., BOGNÁR A., 2000 a. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B6 content in two varieties of Brazilian beans. *Radiat. Phys. Chem.* 57: 299-303.

Korus J., 2011. Wpływ napromieniania suchych nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) promieniami gamma na zawartość polifenoli oraz aktywność antyrodnikową. *Nauka Przyr. Technol.* 5, 2, #11.

VILLAVICENCIO A.L.C.H., MANCINI-FILHO J., DELINCÉE H., GREINER R., 2000 b. Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans. *Radiat. Phys. Chem.* 57: 289-293.

XUETONG F., 2005. Antioxidant capacity of fresh-cut vegetables exposed to ionizing radiation. *J. Sci. Food Agric.* 85: 995-1000.

INFLUENCE OF GAMMA IRRADIATION OF DRY BEAN SEEDS (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) ON THEIR PHENOLICS CONTENT AND ANTIRADICAL ACTIVITY

Summary. Seeds of five bean cultivars were irradiated at doses of 3 and 10 kGy. The content of total phenolics, flavonols, anthocyanins and condensed tannins was analysed in ethanolic extracts. Antiradical activity against DPPH radicals was measured using the Electron Paramagnetic Resonance method. Irradiation of bean seeds only slightly decreased the total phenolics (at dose 3 kGy) or tannin content, and in greater extent flavonols and anthocyanins. The free radicals were initially faster scavenging by extracts from irradiated beans than by the extracts from raw seeds. However, the final values (after 60 min) were similar.

Key words: bean, irradiation, phenolics, antiradical activity

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Jarosław Korus, Katedra Technologii Węglowodanów, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kollątaja w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków, Poland, e-mail: rrkorus@cyf-kr.edu.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

18.01.2011

Do cytowania – For citation:

Korus J., 2011. Wpływ napromieniania suchych nasion fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) promieniami gamma na zawartość polifenoli oraz aktywność antyrodnikową. *Nauka Przyr. Technol.* 5, 2, #11.