

Małgorzata Gumienna, Małgorzata Lasik, Zbigniew Czarnecki

WPŁYW OBRÓBK MIKROBIOLOGICZNEJ NA ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH W WYBRANYCH NASIONACH ROŚLIN STRĄCZKOWYCH

Zakład Fermentacji i Biosyntezy Wydziału Nauk o Żywności i Żywienia
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
Kierownik: prof. dr hab. J. Nowak

*Celem niniejszej pracy było określenie zawartości związków biologicznie aktywnych oraz ich aktywności przeciwutleniającej w wybranych nasionach roślin strączkowych poddanych obróbce mikrobiologicznej. Badanym materiałem były nasiona ciecierzycy i bobu zielonego oraz ich surowce pośrednie poddane procesowi fermentacji mlekowej z zastosowaniem bakterii *Lactobacillus plantarum* T-106. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wyższą zawartość polifenoli jak i aktywność przeciwutleniającą wykazuje bób zielony. Przeprowadzony proces fermentacji mlekowej i suszenia w przypadku obu analizowanych nasion w sposób istotny spowodował obniżenie zawartości analizowanych związków. Zastosowane procesy wpłynęły korzystnie na strawność *in vitro* białka (o około 10%).*

Hasła kluczowe: polifenole, aktywność przeciwutleniająca, przeciwutleniacze, fermentacja mlekowa, rośliny strączkowe.

Key words: poliphenols, antioxidant activity, antioxidants, lactic fermentation, leguminous plants.

Żywność pochodzenia roślinnego jest bogatym źródłem substancji biologicznie aktywnych, zarówno odżywczych, jak i określanym mianem antyżywnościowych. Liczną grupę wśród tych ostatnich związków stanowią substancje o działaniu przeciwutleniającym. W szerokim znaczeniu, przeciwutleniacze obejmują wszystkie rodzaje substancji hamujących reakcje z tlenem (1, 2). Żywność bogata w przeciwutleniacze odgrywa istotną rolę w profilaktyce wielu chorób. Naukowcy ciągle poszukują naturalnych przeciwutleniaczy uważanych za bezpieczne, a jednocześnie dobrze akceptowanych przez konsumentów. Najlichnieszą grupą wśród naturalnych przeciwutleniaczy są polifenole. Związki te należą do wtórnych naturalnych metabolitów roślinnych. Powszechnie występują w owocach, warzywach, zbożach i w roślinach strączkowych. Ich przeciwutleniające właściwości, zwłaszcza flawonoidów i kwasów fenolowych, są w literaturze

obszernie opisane. Wśród nasion roślin strączkowych najbardziej poznane są polifenole z nasion soi, natomiast niewiele jest prac opisujących działanie przeciwutleniające polifenoli występujących w krajowych nasionach roślin strączkowych w tym bobu i ciecierzycy (2, 3).

Celem niniejszej pracy było określenie zawartości związków biologicznie aktywnych oraz ich aktywności przeciwutleniającej w wybranych nasionach roślin strączkowych poddanych obróbce mikrobiologicznej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły nasiona roślin strączkowych bobu zielonego odmiana Windsor Biały i ciecierzycy, pochodzących ze zbiorów w 2009 r. zakupione w handlu detalicznym.

Nasiona po rozdrobieniu i nawilżeniu do wilgotności ok. 50% poddawano procesowi fermentacji bakteryjnej (*Lactobacillus plantarum T-106* - Biolacta w Olsztynie) w temp. 37 °C przez 18 godz., następnie uzyskany produkt poddawano procesowi suszenia w suszarce owiewowej w temp. 60 °C do uzyskania końcowej wilgotności 15 - 17% (4).

W samym surowcu jak i po obróbce mikrobiologicznej oznaczano: ogólną zawartość polifenoli, potencjał antyoksydacyjny, białko ogólne oraz stawność białka metodą *in vitro*, wykonano ilościową i jakościową analizę związków fenolowych oraz skład węglowodanowy.

Całkowitą zawartość polifenoli oznaczono w ekstraktach z wykorzystaniem reakcji z odczynnikami fenolowym *Folina* i *Cioaltea* wg zmodyfikowanej metody *Singletona* i *Rossiego* (5).

Do ekstrakcji używano mieszaniny acetonu i wody w stosunku 70:30 przy jednokrotnej ekstrakcji polifenoli z badanych surowców.

Aktywność antyoksydacyjną oznaczano wobec odczynnika ABTS* (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) wg metody opisanej przez *Re* i *współpr.* (6). Aktywność wyrażano w przeliczeniu na mg Troloxu odpowiadającego sile antyoksydacyjnych właściwości badanego ekstraktu.

Białko ogólne oznaczono metodą *Kiejdahla* (7), natomiast strawność białka *in vitro* przeprowadzono metodą pepsynowo-pankreatynową wg *Saunders'a* i *współpr.* (8).

Analizę ilościową i jakościową związków fenolowych przeprowadzono w oparciu o zmodyfikowaną metodę *Hertoga* i *współpr.* (9), natomiast skład węglowodanowy oznaczana metodą HPLC w opracowaniu własnym.

Wszystkie oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach. Celem porównania istotności różnic pomiędzy próbkami (dla $p = 0,05$) posłużono się analizę wariancji ANOVA, z pakietu programu Statistika 6.0, wyznaczono współczynnik korelacji pomiędzy zawartością związków fenolowych, a ich aktywnością antyoksydacyjną oznaczaną w badanym materiale.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Największą zawartością związków fenolowych i aktywnością antyoksydacyjną charakteryzował się bób zielony (4,76 mg/g s.s. i 32,37 mg Tx/g s.s.) natomiast ciecierzycza wykazywała zawartość związków fenolowych na poziomie - 0,47 mg/g s.s., a aktywność antyoksydacyjną -1,69 mg Tx/g s.s. (tab. I). Fermentacja mlekowa spowodowała istotne ($p < 0,05$) zmiany związków bioaktywnych w badanych nasionach. W próbach bezpośrednio po fermentacji stwierdzono wzrost zawartości związków fenolowych o 23% w przypadku bobu, natomiast po fermentacji nasion ciecierzycy - 100%. Podobną zależność odnotowano analizując aktywność antyoksydacyjną fermentowanej śruty (tab. I).

Tabela 1. Wpływ obróbki biotechnologicznej na ogólną zawartość związków fenolowych i ich aktywność antyoksydacyjną oznaczanych na poszczególnych etapach prowadzonego procesu

Table 1. Influence of biotechnological treatment on phenolic content and its antioxidant activity detected on selected stages of technological process

Surowiec	Etap procesu		
	Surowiec-śruta	Surowiec po fermentacji	Surowiec po fermentacji i suszeniu
Zawartość związków fenolowych [mg kw. galusowego/g s.s.]			
Ciecierzycza	0,47 ± 0,01 ^a	1,18 ± 0,22 ^c	0,92 ± 0,01 ^b
Bób zielony	4,76 ± 0,06 ^b	5,86 ± 0,12 ^c	3,57 ± 0,03 ^a
Aktywność antyoksydacyjna [mg Tx/g s.s.]			
Ciecierzycza	1,69 ± 0,15 ^a	3,83 ± 0,13 ^c	3,11 ± 0,09 ^b
Bób zielony	32,37 ± 1,25 ^b	36,25 ± 0,60 ^c	22,27 ± 0,51 ^a

Istotne statystycznie różnice oznaczono odmiennymi inskrypcjami literowymi.

Obróbka termiczna (suszenie) w każdym z badanych produktów spowodowała obniżenie poziomu i aktywności substancji bioaktywnych w nasionach. Najprawdopodobniej napowietrzanie i temperatura 50⁰C przyczyniają się do oznaczonych strat polifenoli. W ciecierzycy ich wartość wyniosła odpowiednio 0,92 mg/g s.s., natomiast w bobie zielonym 3,58 mg/g s.s. Aktywność przeciwutleniająca została zredukowana o 19% w ciecierzycy, a w bobie zielonym o 39%. W pracy *Alonso* i wółpr. (10) potwierdzony jest negatywny wpływ suszenia na obniżenie związków bioaktywnych. Proces ten doprowadził do redukcji polifenoli w nasionach strączkowych o 35%. Mimo odnotowanej redukcji zawartości związków biologicznie aktywnych, zauważalna jest dobra korelacja między zawartością polifenoli w nasionach, a ich zdolnością przeciwutleniającą na poszczególnych etapach przeprowadzonego procesu biotechnologicznego odpowiednio w surowcu $r=0,94$, po procesie fermentacji $r=0,98$, po fermentacji i suszeniu $r=0,92$.

Tabela II. Zmiany zawartości wybranych cukrów w nasionach roślin strączkowych na poszczególnych etapach procesu
 Table II. Changes in leguminous plants seeds sugar content on selected stages of technological process

Cukry	Etap procesu		
	Surowiec-śruta	Surowiec po fermentacji	Surowiec po fermentacji i suszeniu
Ciecierzycza [mg/g s.s.]			
Glukoza	-	29,30 ± 0,08	17,38 ± 0,05
Fruktoza	-	40,79 ± 0,50	47,08 ± 0,65
Rafinoza	40,58 ± 0,31	47,48 ± 0,11	23,26 ± 0,22
Stachioza	2,89 ± 0,02	13,47 ± 0,02	5,58 ± 0,07
Bób zielony [mg/g s.s.]			
Glukoza	-	2,55 ± 0,02	0,12 ± 0,00
Fruktoza	-	1,28 ± 0,01	0,24 ± 0,00
Rafinoza	25,99 ± 0,04	6,00 ± 0,01	0,84 ± 0,01
Stachioza	122,55 ± 0,20	15,33 ± 0,03	5,16 ± 0,05

Tabela III. Wpływ obróbki biotechnologicznej na zawartość białka ogólnego i jego strawność *in vitro* oznaczanego na poszczególnych etapach prowadzonego procesu

Table III. Influence of biotechnological treatment on protein content and its *in vitro* digestion, detected on selected stages of technological process

Surowiec	Etap procesu		
	Surowiec-śruta	Surowiec po fermentacji	Surowiec po fermentacji i suszeniu
Zawartość białka ogólnego [%]			
Ciecierzycza	22,98 ± 0,01 ^b	21,19 ± 0,03 ^a	30,28 ± 0,28 ^c
Bób zielony	29,91 ± 2,30 ^{ab}	27,17 ± 0,42 ^a	31,75 ± 0,26 ^b
Strawność białka <i>in vitro</i> [%]			
Ciecierzycza	69,16 ± 2,91 ^a	74,80 ± 2,89 ^b	78,86 ± 2,42 ^c
Bób zielony	66,47 ± 4,44 ^a	73,36 ± 2,69 ^b	76,6 ± 3,15 ^c

Istotne statystycznie różnice oznaczono odmiennymi inskrypcjami literowym.

Jakościowa i ilościowa analiza HPLC potwierdziła różnice w zawartości związków fenolowych w badanych nasionach. Surowy bób zielony charakteryzował się najwyższą zawartością związków o charakterze kwasów fenolowych, jak i flawanoli (tab.IV.).

Tabela IV. Zawartość wybranych związków fenolowych w nasionach strączkowych na poszczególnych etapach procesu biotechnologicznego

Table IV. Phenolic content in leguminous plants seeds on selected stages of technological process

Surowiec	Związki fenolowe [mg/g s.s.]						
	Kwas galusowy	Kwas ferulowy	Kwas cynamonowy	Kwercetyna	Katechina	Apigenina	Kampferol
Surowiec-śruta							
Ciecierzycza	0,466	0,667	0,378	0,012	0,076	0,031	0,191
Bób zielony	1,911	0,804	1,327	0,049	0,332	0,088	0,628
Surowiec po fermentacji							
Ciecierzycza	0,888	1,232	0,723	0,019	0,094	0,038	0,289
Bób zielony	1,613	0,718	1,124	0,049	0,227	0,048	0,344
Surowiec po fermentacji i suszeniu							
Ciecierzycza	0,529	0,717	0,390	0,010	0,046	0,011	0,123
Bób zielony	0,595	0,226	0,352	0,014	0,052	0,013	0,105

Proces fermentacji w znacznym stopniu wpłynął również na zawartość oligosacharydów: rafinozy i stachiozy odpowiedzialnych za efekt gazotwórczości w organizmie człowieka, redukując w znacznym stopniu ich zawartość (tab. II).

Ilość białka ogólnego w suchej substancji badanych nasion zależy od odmiany i kształtuje się na średnim poziomie 28% w suchej substancji (11, 12).

Z przeprowadzonych badań wynika, że najbardziej strawne białko posiada ciecierzycza. Fermentacja mlekowa spowodowała wzrost zawartości białka.

WNIOSKI

Obróbka biotechnologiczna zastosowana w badaniach stwarza możliwość przetwarzania nasion roślin strączkowych w produkty łatwiej strawne. Fermentacja mlekowa podniosła zawartość związków fenolowych w surowcach a przez to ich aktywność antyoksydacyjną. Jednakże zastosowany końcowy proces suszenia obniżał te parametry.

M. Gumienna, M. Lasik, Z. Czarnecki

INFLUENCE OF MICROBIOLOGICAL TREATMENT ON BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS CONTENT IN SELECTED LEGUMINOUS PLANTS SEEDS

Summary

The aim of this study was to evaluate the content of biological activity in selected leguminous plant seeds after microbiological treatment. The material used in the investigation was chickpea and green broad bean seeds as well as their intermediate products submitted to a lactic fermentation process with *Lactobacillus plantarum* T-106. As a result of the research conducted it was stated that green broad bean showed the highest polyphenols content and antioxidant activity. Importantly, Lactic fermentation and the drying process applied to both seeds caused a decrease of polyphenols' capacity compounds. Processes used in the research advantageously affected protein *in vitro* digestion (for about 10%).

PIŚMIENNICTWO

1. Szajdek A., Borowska J.: Właściwości przeciwutleniające żywności pochodzenie roślinnego, *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2004; 4(41): 5-28. – 2. Drużyńska B., Jeżak A.: Właściwości przeciwutleniające polifenoli zawartych w okrywie nasiennej nasion bobu, *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2007, 5(54): 113-121. – 3. Lampart-Szczapa L., Koniczny P., Kossowska I., Nogala-Kalucka M., Zawirska-Wojtasiak R., Hoffmann A.: Właściwości sensoryczne a zawartość tanin w fermentowanych i ekstradowanych preparatów łubinowych, *Żywność, Nauka, Technologia, Jakość*, 2009, 4(65): 62-69. – 4. Czarnecka M., Czarnecki Z., Nowak J., Roszyk H.: Effect of lactic fermentation and extrusion of bean and pea seeds on nutritional and functional properties, *Nahrung*, 1998; 1:7-11. – 5. Singleton V.L., Rossi J.A.: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phodphotungstics acid reagents, *Am. J. Etanol. Vitic.*, 1965; 16:144-158. – 6. Re R., Pellegirini N., Protegente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolonization asay, *Free radical Biol. Medicine*, 1999; 1231-1232. – 7. Krelowska-Kulas M.: Badanie jakości produktów spożywczych. PWE. Warszawa 1993.- 8. Saunders R.M., Coonor M.A., Booth A.N., Bickoff E.M., Kohler G.O.: Measurement of digestability of alfalfa protein concentrates by in vivo and in vitro methods. *J. Nutr.*, 1973, 103: 530-535. – 9. Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Venema D.P.: Optimization of quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits, *J. Agric. Food Chem.*, 1992, 40: 1591 – 1598. – 10. Alonso R., Grant G., Fruhbeck G., Marzo F.: Muscle and liver protein metabolism in rats fed raw or heat-treated pea seeds, *J. Nutri. Biochem.*, 2002, 13: 611-618.

11. Korus J., Gumul D., Achremowicz B.: Skład chemiczny pięciu nowych odmian fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris L.*), *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2005, 4 (45): 81 – 86. – 12. Gumienna M., Czarnecka M., Czarnecki Z.: Zmiany zawartości wybranych składników odżywczych w produktach otrzymanych z nasion roślin strączkowych pod wpływem obróbki biotechnologicznej, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 6: 159-169.

Adres: 60-624 Poznań, ul. Wojska Polskiego 31.