

## SKŁAD CHEMICZNY JARMUŻU UPRAWIANEGO NA DWÓCH TYPACH GLEBY

*Barbara Łata, Marzena Wińska-Krysiak*

Samodzielny Zakład Przyrodniczych Podstaw Ogrodnictwa, SGGW  
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa  
e-mail: lata@alpha.sggw.waw.pl

**Streszczenie.** Oznaczono stężenie askorbinianu, glutationu i jego prekursorów, związków fenolowych oraz całkowitą aktywność przeciwutleniającą w dwóch odmianach jarmużu rosnących na madzie i glebie płowej. Odmiana zielonolistna jarmużu (Winterbor F<sub>1</sub>) charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością witaminy C i związków tiolowych, zaś czerwonolistna (Redbor F<sub>1</sub>) związków fenolowych, a w efekcie wyższą całkowitą aktywnością przeciwutleniającą. Odmiana Redbor F<sub>1</sub> charakteryzowała się także wyższą zawartością suchej masy. Rośliny uprawiane na glebie płowej miały zwiększone stężenie oznaczanych związków w porównaniu do uprawianych na madzie, jednak istotność różnic zależała od roku badań i rodzaju związku.

**Słowa kluczowe:** jarmuż, askorbinian, glutation, fenole, FRAP

### WSTĘP

Antyoksydanty hydrofilowe to związki biologicznie aktywne ważne nie tylko z punktu widzenia żywienia człowieka, ale i niezbędne do wzrostu i rozwoju roślin. W obu przypadkach stanowią istotne ogniwo aparatu antyoksydacyjnego, jako mechanizmu chroniącego m.in. przed reaktywnymi formami tlenu [3,14, 16,18]. Warzywa z rodziny *Cruciferae* znane są z wysokich walorów odżywczych ze względu na obecność związków zawierających siarkę, wysokiego stężenia witaminy C i związków fenolowych, dużych ilości wysokowartościowego białka i soli mineralnych. Glutation należący do niskocząsteczkowych związków tiolowych jest odpowiedzialny m.in. za utrzymanie wysokiego stosunku formy zredukowanej askorbinianu do utlenionej, który warunkuje sprawność askorbinianu jako przeciwutleniacza i reduktanta [18]. Ponieważ związków o charakterze przeciwutleniającym jest w roślinach bardzo dużo opracowano szereg metod, na pod-

stawie których można ocenić całkowitą pojemność przeciwutleniającą, sumującą aktywność poszczególnych składników aparatu antyoksydacyjnego [17]. Ponadto wciąż zbyt mało wiadomo, czy za prozdrowotne właściwości warzyw i owoców odpowiada jeden, kilka czy wszystkie związki w nich obecne [3]. Stąd też możliwość sumarycznej oceny aktywności przeciwutleniającej jest przydatnym narzędziem w ocenie tzw. jakości zdrowotnej owoców i warzyw. Skład chemiczny roślin jest warunkowany endogennie, a modyfikowany przez czynniki środowiskowe. Antyoksydanty to grupa związków niezwykle aktywna w warunkach stresu u roślin [5,7]. Wzrost ich stężenia łączy się z odpornością roślin lub zdolnością do szybkiej aklimatyzacji w niekorzystnych lub zmieniających się warunkach środowiska.

Celem pracy była ocena całkowitej zawartości askorbinianu, glutationu i jego prekursorów, fenoli i antocyjanów oraz całkowitej zdolności przeciwutleniającej ekstraktów z roślin jarmużu, odmiany Redbor F<sub>1</sub> i Winterbor F<sub>1</sub>. Ponadto czynnikiem różnicującym były także dwa typy gleby, na których uprawiano rośliny: gleba płowa i mada.

#### MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono w latach 2001-2002. Na mikropoletka o powierzchni 1m<sup>2</sup> oraz głębokości 1,4 m wypełnione glebą płową oraz madą posadzono dwie odmiany jarmużu: Winterbor F<sub>1</sub> oraz Redbor F<sub>1</sub> o odpowiednio zielonym i czerwonym ulistnieniu przeznaczonych na zbiór późnojesienny. Rostadę przygotowywano w szklarniach SGGW i sadzono w trzeciej dekadzie sierpnia na miejsca stałe. Nawożenie gleb przeprowadzono na podstawie analizy chemicznej gleby przeprowadzonej metodą uniwersalną. Na obu glebach zastosowano ten sam poziom nawożenia NPK. Zbiór przeprowadzono w pierwszej dekadzie listopada. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach (4 poletka), a na poletku uprawiano 4 rośliny. Po zbiorze rośliny ważono, suszono a próbki do analiz chemicznych zamrażano w ciekłym azocie i przechowywano w -80°C. Dane dotyczące średniej temperatury oraz opadów w poszczególnych miesiącach wegetacji zawiera tabela 1.

Całkowitą zawartość askorbinianu oraz niskocząsteczkowych związków tiolowych (cysteiny,  $\gamma$ -glutamylcysteiny, glutationu) oznaczono metodą wysokosprawną chromatografii cieczowej. Tkankę homogenizowano w ciekłym azocie i ekstrahowano 0,1 M HCl. Redukcję utlenionych form glutationu i askorbinianu przeprowadzono przy pomocy dithiothreitolu (DTT). W przypadku askorbinianu zastosowano rozdział izokratyczny stosując 2% NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> w 10% CH<sub>3</sub>OH oraz detektor UV-VIS [1]. Dla związków tiolowych rozdział przeprowadzono w gradiencie 10 i 90% CH<sub>3</sub>OH po ich uprzednim przeprowadzeniu w fluorescencyjne pochodne [11].

**Tabela 1.** Temperatura i opady w czasie sezonu wegetacyjnego w latach 2001-2002 (Stacja Warszawa-Wilanów)**Table 1.** Mean month temperature and rainfall in 2001-2002 (Warsaw-Wilanow Station)

Rok – Year	Temperatura – Temperature (°C)				Opad – Rainfall (mm)			
	Miesiące – Months				Miesiące – Months			
	VIII	IX	X	XI	VIII	IX	X	XI
2001	18,83	11,89	10,44	2,38	41,2	83,4	45,0	35,4
2002	19,90	12,99	6,97	3,78	132,4	45,0	67,0	33,0
Średnia dla lat 1961-1990 Mean for 1961-1990	17,60	13,50	8,60	3,40	65,7	43,1	35,9	39,9

Związki fenolowe oraz antocyjany oznaczono spektrofotometrycznie po ekstrakcji w mieszaninie metanolu, kwasu mrówkowego i wody destylowanej (10:1,5:48,5) w temperaturze 50°C [10]. Jako standardu użyto odpowiednio kwasu galusowego i 3,5-di-glukozydu cyjanidyny w formie chlorkowej.

Całkowitą aktywność przeciwutleniającą oznaczono stosując metodę FRAP (*ferric reducing ability*) [2]. Tkanę homogenizowano, po roztarciu w ciekłym azocie, w wodzie miliQ a przefiltrowany ekstrakt (100 µl) dodawano do 3 ml mieszaniny składającej się z 10 mM TPTZ (2,4,6-tripirydył-s-triazina), 20 mM FeCl<sub>3</sub> x 6 H<sub>2</sub>O oraz buforu octanowego o pH=3,6 zmieszanych w stosunku 1:1:10 tuż przed oznaczeniem (tzw. odczynnik FRAP). Roztwór ten przed dodaniem ekstraktu inkubowano przez około 10 minut w temperaturze 37°C. W środowisku kwaśnym żelazo znajdujące się w odczynniku FRAP i będące na trzecim stopniu utlenienia ulega redukcji do formy żelazawej o intensywnej niebieskiej barwie, wykazującej maksimum absorpcji przy 593 nm. Reakcja ta zachodzi pod wpływem wszystkich substancji o właściwościach redukujących będących w ekstrakcie. Do przygotowania roztworów wzorcowych wykorzystuje się FeSO<sub>4</sub> x 7 H<sub>2</sub>O.

Wyniki opracowano stosując trzy-czynnikową analizę wariancji program ANOVA, zaś do porównań średnich użyto testu Tukey'a, na poziomie istotności p = 0,05. W przypadku procentowej zawartości suchej masy w świeżej masie roślin wyniki poddano transformacji Bliss'a. W tabeli zamieszczono dane po retransformacji.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Analizy chemiczne potwierdzają wysokie walory odżywcze jarmużu w grupie warzyw kapustnych. Średnia zawartość askorbinianu i glutationu wynosiła odpowiednio od 146 do 162 mg na 100 g świeżej masy oraz od 298 do 323 nmoli·g<sup>-1</sup> św. m., w zależności od odmiany (tab. 2). Zawartości te przewyższają stężenia uzyskane dla innych warzyw z tej rodziny jak liście kalarepy, róże kalafiora czy brokuła [6,8,9]. Zielonolistna odmiana Winterbor F<sub>1</sub> charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością askorbinianu i glutationu, w porównaniu do odmiany Redbor F<sub>1</sub>. Natomiast w odmianie Redbor F<sub>1</sub> stwierdzono odpowiednio 2- oraz 7-krotnie wyższą zawartość związków fenolowych oraz antocyjanów w porównaniu do odmiany Winterbor F<sub>1</sub>. Pomiar całkowitej zdolności redukującej ekstraktów z obu odmian wykazał prawie 2-krotnie wyższą wartość tego wskaźnika dla odmiany o czerwonych liściach. Wyniki te są w zgodne z danymi literaturowymi, według których przeciwutleniacze wykazują bardzo zróżnicowaną aktywność [12]. W grupie związków biologicznie czynnych silniejsze właściwości przeciwutleniające wykazują związki o charakterze fenolowym, w porównaniu do np. askorbinianu – najpowszechniej i najdawniej znanego antyoksydanta. Stąd też wiele prac charakteryzuje askorbinian jako słaby przeciwutleniacz w porównaniu do związków fenolowych, a zwłaszcza polifenoli (flawonoidów i będących w tej grupie antocyjanów) [4,12].

Interesujący jest fakt, że na glebie płowej większość badanych wskaźników charakteryzowała się istotnie wyższą wartością w porównaniu do roślin uprawianych na madzie (tab. 2). Średnio, wzrost stężenia askorbinianu i glutationu w liściach roślin uprawianych na glebie płowej wyniósł odpowiednio: 11% i 12%. W najmniejszym stopniu rodzaj gleby modyfikował zawartości fenoli ogółem i antocyjanów (wzrost o 5% i 2%), zaś w największym stężenie  $\gamma$ -glutamylcysteiny, prekursora glutationu (wzrost o 33%). Wartość wskaźnika FRAP wzrosła w przypadku gleby płowej o około 13%. Wzrost syntezy i stężenia przeciwutleniaczy obserwowano przy wysokiej intensywności światła, skrajnych temperaturach, źle zbilansowanym lub niedostatecznym żywieniu mineralnym, podczas stresu suszy, uszkodzeniach mechanicznych jak i żerowaniu szkodników. Czynniki te, to tzw. stresory powodujące powstawanie wolnych rodników, które uszkadzają DNA, białka lub powodują peroksydację lipidów [4,7]. Zwiększone generowanie antyoksydantów w warunkach stresu ma na celu zneutralizowanie wolnych rodników, reaktywnych form tlenu, czy nadtlenku wodoru zanim dojdzie do uszkodzeń ważnych makromolekuł komórkowych. Obserwowany w niniejszym doświadczeniu wzrost stężenia tych aktywnych biologicznie związków, może świadczyć o umiarkowanych warunkach stresowych na tej glebie, z uwagi na brak zaburzeń we wzroście roślin. Ponadto analiza statystyczna wykazała, że dla niektórych wskaźników efekt ten silnie zależał od sezonu wegetacyjnego

(tab. 3). W roku 2001 odnotowano niewielkie wzrosty stężeń niektórych związków u roślin uprawianych na glebie płowej (cysteina, zawartość suchej masy) lub mądzie (askorbinian, glutation), ale różnice te były statystycznie nieistotne. Przeciwnie, w roku 2002 stwierdzono, udowodniony statystycznie kilkunastoprocentowy wzrost stężeń związków tiolowych, askorbinianu i zawartości suchej masy, ale tylko w liściach roślin rosnących na glebie płowej.

**Tabela 2.** Zawartość związków biologicznie aktywnych w zależności od genotypu (A) i typu gleby (B)  
**Table 2.** Concentration of bioactive constituents depending on genotype (A) and type of soil (B)

Składnik – Constituent	A. Odmiana – Cultivar		B. Rodzaj gleby – Type of soil	
	Winterbor F <sub>1</sub>	Redbor F <sub>1</sub>	mada silty loam alluvial soil	płowa podsol sandy soil
Askorbinian Ascorbate ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	1621a <sup>1</sup>	1458b	1458b	1620a
Cysteina Cysteine ( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	49,8a	48,2a	47,3a	50,4a
$\gamma$ – glutamylcysteina $\gamma$ – gyltamylcysteine ( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	1,28b	1,86a	1,35b	1,80a
Glutation Glutathione ( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	323a	298b	293b	329a
Fenole Phenolics ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	2021b	4150a	2994a	3177a
Antocyjany Anthocyanins ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	121b	864a	487b	498a
FRAP Ferric reducing ability ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	22,6b	40,3a	29,5b	33,3a
% s. m. % d.m.	17,7a	16,3b	16,4a	17,6a

Oznaczenia – Explanation: <sup>1</sup>liczby oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie – <sup>1</sup>numbers marked with the same letters do not differ significantly.

Intensywność opadów, lub częstotliwość nawadniania może być skorelowana ujemnie ze stężeniem witaminy C, jako jedna ze strategii obronnych rośliny w czasie trwania stresu suszy [15]. Z punktu widzenia żywienia mineralnego mo-

że to być spowodowane wypłukiwaniem składników mineralnych, zwłaszcza na glebach o większej przepuszczalności. Wegetacja jarmużu przebiega najkorzystniej w czasie chłodnych miesięcy oraz obfitych opadów w drugiej połowie lata przy wysokiej wilgotności gleby [13]. Wyraźne różnice w omawianych sezonach i ilościach opadów miały miejsce w sierpniu i wrześniu. Większe opady odnotowano, w porównaniu do średnich wieloletnich, w roku 2002. Trudno jednak z całą pewnością podać przyczynę odnotowanych różnic w powiązaniu z przebiegiem temperatury i opadów. Dodatkowym źródłem informacji może być bilans składników mineralnych przed i po zakończonym doświadczeniu. Próba taka zostanie podjęta w oddzielnym artykule.

**Tabela 3.** Stężenie wybranych antyoksydantów w roślinach jarmużu w zależności od typu gleby i roku badań

**Table 3.** Content of chosen antioxidants in kale depending on type of soil and vegetation season

Składnik Constituent	Rok – Year					
	2001			2002		
	Rodzaj gleby – Type of soil			Rodzaj gleby – Type of soil		
	mada silty loam alluwial soil	Płowa podsol sandy soil	wzrost stężenia increase of the content (%)	mada silty loam alluwial soil	płowa podsol sandy soil	wzrost stężenia increase of the content (%)
Askorbinian Ascorbate ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	1350a <sup>1</sup>	1411a	4,5	1567b	1829a	16,7
Cysteina Cysteine ( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	49,9a	48,4a	3,1	45,4b	52,4a	15,4
Glutation Glutathione ( $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ św. m.)	259a	274a	5,8	326b	383a	17,5
% s.m.	16,6a	16,2a	2,5	16,2b	19,1a	17,9
% d.m.						

Oznaczenia – Explanation: <sup>1</sup>liczby oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie – <sup>1</sup>numbers marked with the same letters do not differ significantly.

## WNIOSKI

1. Stwierdzono istotne różnice w składzie chemicznym ocenianych odmian jarmużu o zróżnicowanym wybarwieniu liści. Zielonolistna odmiana Winterbor F<sub>1</sub> charakteryzowała się istotnie wyższą zawartością askorbinianu i glutationu, zaś czerwonolistna Redbor F<sub>1</sub> istotnie wyższym stężeniem związków fenolowych.

2. Ekstrakty z liści odmiany Redbor F<sub>1</sub> wykazywały prawie 2-krotnie wyższą zdolność redukującą (wskaźnik FRAP) w porównaniu z odmianą Winterbor F<sub>1</sub>.

3. Rodzaj gleby różnicował w sposób istotny skład chemiczny roślin, ale wpływ ten zależał od roku badań i najsilniej zaznaczył się w przypadku askorbinianu oraz glutationu.

4. Gleba płowa w pewnych warunkach może sprzyjać zwiększonej syntezie askorbinianu i niskocząsteczkowych związków tiolowych oraz gromadzeniu suchej masy w roślinach jarmużu.

#### PIŚMIENNICTWO

1. **Anderson J.V., Chevone B.I., Hess J.L.:** Seasonal variation in the antioxidant system of eastern white pine needles. *Plant Physiol.*, 98, 501-508, 1992.
2. **Benzie F.F., Strain J.J.:** Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Anal. Biochem.*, 239, 15-27, 1999.
3. **Benzie I.F.F.:** Evolution of dietary antioxidants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 136, 113-126, 2003.
4. **Gould K.S., McKelvie J., Markham K.R.:** Do anthocyanins function as antioxidant in leaves? Imaging of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in red and green leaves after mechanical injuries. *Plant, Cell and Environment*, 25, 1261-1269, 2002.
5. **Lee S.K., Kadar A.A.:** Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.*, 20, 207-220, 2000.
6. **Leja M., Mareczek A., Starzyńska A., Rożek S.:** Antioxidant ability of broccoli flower buds during short-term storage. *Food Chem.*, 72, 219-222, 2001.
7. **Łata B.:** Mechanizmy chroniące roślinę przed stresem oksydacyjnym, wywołanym niekorzystnymi warunkami środowiska. *Postępy Nauk Roln.*, 6/98, 115-132.
8. **Łata B., Przeradzka M.:** Glutathione and ascorbate contents in broccoli and lettuce cultivars. *Folia Hort.*, 11, 2, 13-22, 1999.
9. **Łata B., Przeradzka M., Trąmpczyńska A.:** Wpływ nawożenia azotem na poziom i aktywność wybranych elementów systemu antyoksydacyjnego w zgrubieniu i liściu kalarepy odmiany 'Korist F1'. *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu - CCCXLI, Ogrodnictwo*, 35, 11-18, 2002.
10. **Mazza G., Fukamoto L., Delaquis P., Girard B., Evert B.:** Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *J. Agric. Food Chem.*, 47, 4009-4017, 1999.
11. **Newton G.L., Dorian R., Fahey R.C.:** Analysis of biological thiols: derivatization with monobromobimane and separation by reversed phase liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 111, 383-387, 1987.
12. **Rice-Evans C.A., Miller N.J., Paganga G.:** Antioxidant properties of phenolic compounds. *New Trend Plant Sci. Rev.*, 2, 152-159, 1997
13. **Skapski H., Dąbrowska B.:** Uprawa warzyw w polu. Wydawnictwo SGGW, 76-81, 1994.
14. **Smirnoff N.:** Ascorbic acid: metabolism and functions of a multifaceted molecule. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 229-235, 2000.

15. **Toivonen P.M.A., Zebarth B.J., Bowen P.A.:** Effect of nitrogen fertilization on head size, vitamin C content and storage life of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Can. J. Plant Sci.*, 74, 607-610 1994.
16. **Valencia E., Marin A., Hardy G.:** Glutathione – nutritional and pharmacologic viewpoints. Part IV. *Nutrition*, 17, 783-784, 2001.
17. **Zieliński H., Kozłowska H.:** Measurement of total antioxidant capacity – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 8/49, 2, 147-158, 1999.
18. **Zieliński H.:** Low molecular weight antioxidants in the cereal grains – a review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 11/52, 3-9, 2002.

*Podziękowanie*

*Autorzy dziękują Pani mgr Marzennie Przeradzkiej za pomoc techniczną przy prowadzeniu doświadczeń i wykonywaniu analiz.*

CHEMICAL COMPOSITION OF KALE CULTIVATED ON TWO TYPES  
OF SOIL

*Barbara Łata, Marzena Wińska-Krysiak*

Laboratory for Basic Science in Horticulture, Warsaw Agricultural University  
ul. Nowoursynowska 159, 02-787 Warszawa  
e-mail: lata@alpha.sggw.waw.pl

**Abstract.** The content of ascorbate, glutathione and its precursors, phenolic compounds as well as total antioxidant capacity (FRAP assay) in the two cultivars of kale cultivated on podsol sandy soil and silty loam alluvial soil was measured. Winterbor F<sub>1</sub> cv. (green colour of leaves) exhibited significantly higher concentration of ascorbate and thiol compounds, whereas Redbor F<sub>1</sub> cv. (red colour of leaves) was characterized by significantly higher concentration of phenolics and total antioxidant ability (FRAP assay). Plants grown on podsol sandy soil exhibited considerably higher concentration of ascorbate, thiol compounds and the content of dry matter, but it was strongly dependent on growing season.

**Key words:** curly kale, ascorbate, glutathione, phenolics, FRAP