

Edward BOROWSKI, Władysław MICHAŁEK

Wpływ czasu i warunków przechowywania na zawartość wybranych składników w liściach salaty. Cz. II. Zmiany w zawartości chlorofilu „a” i „b” oraz kwasu L-askorbinowego

Effect of Time and Storage Conditions on the Content of Selected Elements in Lettuce Leaves. Part II. Changes in the Content of a and b Chlorophyll and L-ascorbic Acid

Wartość odżywcza warzyw, zwłaszcza charakteryzujących się krótkim okresem wegetacji, zależy w wysokim stopniu od nawożenia. Badania przeprowadzone przez Nurzyńskiego (1973) wykazały, iż wysokie dawki nawozów azotowych powodowały spadek zawartości witaminy C w roślinach kapustnych. Obserwacje te potwierdził także Kaniszewski i in. (cyt. za Michalik i Elkner 1987), stwierdzając, iż jednostronnie wysokie nawożenie azotem obniża zawartość witaminy C w pomidorach, kapuście, ogórkach i marchwi.

Wysokie nawożenie azotem, jak stwierdził Nowacki (1977), przyczynia się do utrzymania w roślinach intensywnie zielonego zabarwienia liści. Cecha ta jest ważna w przypadku salaty, bowiem zielone zabarwienie liści jest oznaką jej świeżości (Stanley 1989, Jeong i wsp. 1990).

Zawartość witaminy C i barwników chlorofilowych zależy jednak nie tylko od nawożenia i warunków wegetacji, ale także od czasu i warunków, w jakich warzywa są przechowywane. W dotychczasowych badaniach zagadnieniem tym poświęcono stosunkowo mało uwagi. Analizę zmian dotyczących zawartości witaminy C podczas długotrwałego przechowywania marchwi i ziemniaków przeprowadziła Sikora i Międzybrodzka (1989). Natomiast badania dotyczące krótkotrwałego przechowywania warzyw liściowych, zwłaszcza salaty, oparte były głównie na wizualnej ocenie jakości (Wang i wsp. 1984, Stanley 1989, Jeong i wsp. 1990). Dlatego też uznano za celowe przeprowadzenie badań dotyczących określenia wpływu formy azotu na zawartość w liściach chlorofilu a, b i kwasu L-askorbinowego, a także prześledzenie zmian w zawartości tych związków w liściach w różnych warunkach przechowywania salaty.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Doświadczenie prowadzono w kulturach wodnych. Rośliny sałaty odm. 'Alka' rosły w plastikowych pojemnikach mieszczących 1 l pożywki. Zastosowano 3 rodzaje pożywki zróżnicowanej pod względem formy azotu, tj. NO-NO_3 , $\text{N-NO}_3/\text{NH}_4$ i N-NH_4 . Dawka N, P, K, Ca i Mg we wszystkich 3 seriach żywienionych była taka sama. Jedna seria doświadczalna liczyła 45 roślin (po 1 w pojemniku), które traktowano jako powtórzenia.

Zawartość kwasu L-askorbinowego i chlorofilu **a** i **b** oznaczono w 3 losowo wybranych z każdej serii roślinach bezpośrednio po zbiorze. Z pozostałych 42 roślin w serii połowę, tj. 21, zapakowano w woreczki foliowe, a 21 umieszczono na tekturowych tackach. Następnie po 9 roślin opakowane i nie opakowane w folię umieszczono w lodówce w temp. 1° i 5°C. Pozostałe 3 rośliny w folii i bez folii pozostawiono na wolnym powietrzu w temp. ok. 20°C. Po upływie 1 doby przeprowadzono analizę zawartości kwasu L-askorbinowego w 3 roślinach przechowywanych w temp. 1°, 5° i 20°C. Analizę zawartości kwasu L-askorbinowego przeprowadzono także po upływie 3 i 5 dób w roślinach przechowywanych w lodówce w temp. 1° i 5°C. Natomiast zawartość chlorofilu **a** i **b** określono tylko w roślinach sałaty przechowywanych w lodówce w temp. 5°C. Zawartość barwników oznaczono w środkowych liściach główek sałaty, posługując się metodą spektrofotometryczną opisaną przez Arnona (1949). Natomiast zawartość kwasu L-askorbinowego określono przy pomocy metody Pijanowskiego (1973). Do wymienionych analiz użyto tego samego materiału roślinnego co w cz. I pracy. Wszystkie analizy wykonano w dwóch powtórzeniach. Wyniki analiz poddano weryfikacji statystycznej przy pomocy metod podanych w cz. I.

WYNIKI

ZAWARTOŚĆ CHLOROFILU **A** I **B**

Uzyskane wyniki wykazały, iż zastosowana w żywieniu roślin forma azotu wywarła istotny wpływ na zawartość chlorofilu w liściach (tab. 1). Najwięcej chlorofilu **a** i **b** w świeżych liściach zawierały rośliny żywione N-NH_4 , rośliny żywione $\text{N-NO}_3/\text{NH}_4$ i N-NO_3 zawierały odpowiednio o 14% i 34,5% mniej chlorofilu niż wyrosłe na N-NH_4 . Najwyższym jednakże stosunkiem chlorofilu **a** : **b** charakteryzowały się rośliny wyrosłe na azotanach, najniższym zaś wyrosłe na azocie amonowym.

Zawartość chlorofilu **a** w trakcie przechowywania liści sałaty w temp. 5°C uległa zmniejszeniu. Nie uwzględniając różnic wynikających z opakowania roślin w torebki foliowe, zawartość chlorofilu **a** po 1, 3 i 5 dobach zmniejszyła się odpowiednio o około 15%, 20% i 30% w stosunku do liści świeżych. Przechowywanie sałaty w woreczkach foliowych zapobiegało degradacji chlorofilu w liściach. Im dłużej były przechowywane rośliny, tym różnice w zawartości chlorofilu pomiędzy sałatą w folii a przechowywaną bez opakowania były większe, po jednej dobie sięgały one 5%, po 3 dobach wynosiły 8%, a po 5 dobach przekraczały 16%.

Zmiany w zawartościach chlorofilu **b** wynikające z przechowywania sałaty były znacznie mniejsze. Bowiem o blisko 13% obniżyła się zawartość chlorofilu **b** po 1 dobie przechowywania sałaty, w trakcie zaś dalszego przechowywania

Tab. 1. Wpływ formy azotu na zawartość chlorofilu a i b (mg/dcm²) oraz kwasu L-askorbinowego (mg/100 g ś.m.) w liściach sałaty bezpośrednio po zbiorze
Effect of nitrogen form on the content of a and b chlorophyll (mg/dcm²) and L-ascorbic acid (mg/100 g of fresh mass) in lettuce leaves directly after harvesting

Forma N N form	Chlorofil a Chlorophyll a	Chlorofil b Chlorophyll b	Stosunek a : b Relation a : b	Kwas L-askorbinowy L-ascorbic acid
NO ₃	1,54	0,64	2,41	10,64
NO ₃ /NH ₄	1,95	0,87	2,25	13,50
NH ₄	2,24	1,03	2,17	11,75
NIR _{0,05}	1,47	0,083	—	0,27
LSD _{0,05}				

Tab. 2. Wpływ czasu i warunków przechowywania sałaty w temperaturze 5°C na zawartość chlorofilu a i b w liściach (mg/dcm²)
Effect of time and conditions of lettuce storage at the temperature of 5°C on the content of chlorophyll a and b in the leaves (mg/dcm²)

Forma N N form	Po 1 dobie After 24 hrs			Po 3 dobach After 3 days			Po 5 dobach After 5 days		
	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$
chlorofil a – chlorophyll a									
NO ₃	1,27	1,19	1,23	1,26	1,18	1,22	1,18	0,90	1,04
NO ₃ /NH ₄	1,72	1,64	1,68	1,72	1,62	1,67	1,49	1,25	1,37
NH ₄	2,04	1,94	1,99	1,85	1,65	1,75	1,68	1,49	1,58
$\bar{x}$	1,68	1,59	1,63	1,61	1,48	1,54	1,45	1,21	1,33
NIR dla: LSD for:									
formy N, N form			0,10			0,05			0,03
folii, foil			0,06			0,03			0,02
czas, time									0,06
chlorofil b – chlorophyll b									
NO ₃	0,53	0,46	0,49	0,63	0,60	0,61	0,61	0,56	0,58
NO ₃ /NH ₄	0,79	0,81	0,80	0,82	0,86	0,84	0,80	0,73	0,76
NH ₄	0,92	0,95	0,93	0,91	0,86	0,88	0,88	0,80	0,84
$\bar{x}$	0,75	0,74	0,74	0,79	0,77	0,78	0,76	0,70	0,73
NIR dla: LSD for:									
formy N, N form			0,02			0,05			0,03
folii, foil			n.i.			n.i.			0,02
czas, time									0,04
stosunek chlorofilu a : b – relation chlorophyll a – b									
NO ₃	2,40	2,59		2,00	1,97		1,93	1,61	
NO ₃ /NH ₄	2,18	2,02		2,10	1,88		1,86	1,71	
NH ₄	2,22	2,04		2,03	1,92		1,91	1,86	

zmiany były minimalne i nieistotne statystycznie. Pakowanie roślin w woreczki foliowe również nie wpływało wyraźnie na zawartość chlorofilu **b** w liściach. Istotne różnice na korzyść roślin opakowanych stwierdzono tylko po 5 dobach przechowywania (tab. 2).

Stosunek chlorofilu **a** : **b** w przechowywanych liściach zmieniał się głównie pod wpływem czasu i opakowania roślin w folię.

Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania sałaty w temp. 5°C wyraźnie obniżał się stosunek chlorofilu **a** : **b**, po 1 dobie wynosił on średnio 2,24, po 2 dobach 1,98, a po 3 dobach 1,81. Pakowanie roślin w woreczki foliowe wpływało zaś na wzrost stosunku chlorofilu **a** : **b**, niezależnie od czasu przechowywania sałaty (tab. 2).

ZAWARTOŚĆ KWASU L-ASKORBINOWEGO

Zawartość kwasu L-askorbinowego w liściach sałaty tuż po jej zbiorze wynosiła średnio powyżej 10 mg w 100 g świeżej masy i w istotny sposób zależała od zastosowanej formy azotu. Najwięcej kwasu L-askorbinowego zawierały w liściach rośliny żywione $N-NO_3/NH_4$, mniej rośliny wyrosłe na $N-NH_4$, a najmniej wyrosłe na $N-NO_3$ (tab. 1).

W trakcie przechowywania sałaty zawartość kwasu L-askorbinowego obniżała się w miarę wydłużania czasu przetrzymywania roślin, przy czym największy spadek zawartości witaminy C następował w trakcie przechowywania roślin w temp. 20°C, bowiem już po okresie 1 doby zawartość witaminy C obniżyła się średnio w stosunku do liści świeżych o blisko 17%. Natomiast w roślinach przechowywanych w temp. 5°C spadek zawartości witaminy C po 1 dobie przechowywania wynosił około 6%, zaś w temp. 1°C tylko 4%. Wydłużenie czasu przechowywania świeżej sałaty do 5 dób wywołało spadek zawartości kwasu L-askorbinowego sięgający w temp. 5°C do blisko 15%, zaś w temp. 1°C do 12% (tab. 3).

Przechowywanie sałaty w woreczkach foliowych wpływało korzystnie na zawartość kwasu L-askorbinowego w każdej temperaturze. Niemniej jednak opakowanie roślin w folię najskuteczniej chroniło przed rozkładem witaminy C w liściach przechowywanych w temp. 20°C. Liście przechowywane w tej temperaturze na wolnym powietrzu zawierały po 1 dobie o 6% mniej witaminy C niż rośliny opakowane w woreczki foliowe. Rośliny przechowywane w lodówce bez folii w temp. 1° i 5°C po 1 dobie zawierały również średnio o 2,5% mniej witaminy C niż rośliny w folii. Natomiast w roślinach opakowanych i nie opakowanych przechowywanych w temp. 1° i 5°C przez 3 i 5 dni stwierdzono nieznacznie tylko większe różnice w procentowej zawartości kwasu L-askorbinowego (tab. 3).

Uzyskane wyniki wykazały, iż najkorzystniej na zawartość kwasu L-askorbinowego w sałacie wpływał $N-NO_3/NH_4$, najmniej korzystnie zaś $N-NO_3$.

Tab. 3. Wpływ czasu i warunków przechowywania sałaty na zawartość kwasu L-askorbinowego w liściach (mg/100 g ś.m.)

Effect of time and conditions of lettuce storage on the content of L-ascorbic acid in the leaves (mg/100 g of fresh mass)

Forma N N form	Po 1 dobie After 24 hrs			Po 3 dobach After 3 days			Po 5 dobach After 5 days		
	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$	w folii in foil	bez folii without foil	$\bar{x}$
1°C									
NO ₃	10,45	10,00	10,22	9,95	9,75	9,85	9,40	9,15	9,27
NO ₃ /NH ₄	13,20	13,05	13,12	12,90	12,65	12,77	12,10	11,90	12,00
NH ₄	11,35	11,00	11,17	10,97	10,60	10,78	10,55	10,00	10,28
$\bar{x}$	11,67	11,35	11,50	11,28	11,00	11,13	10,69	10,35	10,52
NIR dla: LSD for:									
formy N, N form			0,21			0,28			0,18
folii, foil			0,14			0,18			0,12
czasu, time									0,21
5°C									
NO ₃	10,15	9,80	9,97	9,70	9,55	9,62	9,20	8,80	9,00
NO ₃ /NH ₄	13,00	12,85	12,92	12,65	12,40	12,52	11,95	11,60	11,77
NH ₄	11,05	10,70	10,87	10,70	10,20	10,45	10,00	9,80	9,90
$\bar{x}$	11,40	11,11	11,25	11,02	10,72	10,86	10,38	10,07	10,22
NIR dla: LSD for:									
formy N, N form			0,22			0,21			0,18
folii, foil			0,15			0,14			0,12
czasu, time									0,18
20°C									
NO ₃	9,30	8,95	9,12						
NO ₃ /NH ₄	11,60	11,15	11,36						
NH ₄	10,00	9,00	9,50						
$\bar{x}$	10,30	9,69	9,99						
NIR dla: LSD for:									
formy N, N form			0,17						
folii, foil			0,11						

Trudno wyniki te porównać z wynikami innych badań ze względu na brak danych w literaturze. Dostępne dane wskazują tylko, iż nadmiar azotu w żywieniu roślin, a także jednostronne żywienie azotem powodują spadek zawartości witaminy C w roślinach (Nurzyński 1973, Michalik i Elkner 1987). Korzystny jednakże wpływ N-NO₃/NH₄ na zawartość witaminy C w sałacie wydaje się uzasadniony, ponieważ obecność w podłożu obu form azotu umożliwia roślinom lepsze jego wykorzystanie do przemian metabolicznych

(Weissman 1964), a przy tym w nadmierny sposób nie zwiększa plonów masy vegetacyjnej (cz. I), nie powoduje zatem efektu zbytniego „rozcieńczenia” substancji mineralnych i organicznych.

Podanie równocześnie obu form azotu mineralnego wpływało stosunkowo korzystnie także na zawartość chlorofilu a i b w liściach, chociaż zastosowanie wyłącznie $N-NH_4$ było bardziej korzystne. Wynikało to prawdopodobnie z faktu, iż $N-NH_4$ jako forma nie wymagająca uprzedniej redukcji jest w większym stopniu pobierany i akumulowany w roślinach w formie związków organicznych zwłaszcza białek (Bil' i wsp. 1987, Shaviv i wsp. 1987), ale także i barwników asymilacyjnych niż $N-NO_3$. Nowacki (1977) twierdzi, iż intensywne ciemnozielone zabarwienie liści jest cechą charakterystyczną roślin dobrze i luksusowo zaopatrzonych w azot.

Przechowywanie świeżych liści w temp. $20^{\circ}C$ powodowało, iż proces rozpadu witaminy C był ponad dwukrotnie szybszy niż w temp. $1-5^{\circ}C$ (w tekście używamy zamiennie określeń witamina C, kwas L-askorbinowy uważając, że ze względu na niewielką zawartość formy utlenionej nie jest to błędem). Związane to było niewątpliwie z faktem, iż wszystkie procesy metaboliczne w roślinach są wyraźnie, a niekiedy nawet zupełnie zahamowane w temperaturach zbliżonych do $0^{\circ}C$. Wydłużenie czasu przechowywania sałaty zwiększyło straty w zawartości witaminy C, co także w badaniach prowadzonych na ziemniakach i marchwi potwierdza Sikora i Międzybrodzka (1989). W tych warunkach następował również wyraźny spadek zwłaszcza zawartości chlorofilu a w liściach. Wyniki te znajdują pewne potwierdzenie w badaniach Stanley'a (1989) i Jeong i wsp. (1990), którzy stwierdzili spadek jakości sałaty w warunkach wydłużonego jej przechowywania zwłaszcza w temp. $5^{\circ}-10^{\circ}C$.

Przechowywanie sałaty w woreczkach foliowych w każdej badanej temperaturze wpływało korzystnie zarówno na zawartość kwasu L-askorbinowego, jak i chlorofilu w liściach. Ten korzystny wpływ opakowania roślin w folię wynikał prawdopodobnie z bardzo wyraźnego w tych warunkach ograniczenia utraty wody z liści (cz. I). Pijanowski i in. (1973) stwierdzili, iż straty w zawartości witaminy C podczas przechowywania są szczególnie duże, gdy surowce wędną i starzeją się. Wędnięcie przechowywanych bez opakowania liści sałaty było prawdopodobnie także bezpośrednią przyczyną degradacji chlorofilu w liściach. Wang i wsp. (1984) i Jeong i wsp. (1990) również stwierdzili, iż sałata opakowana w folię nie ulegała tak szybko odbarwieniu jak nie opakowana.

WNIOSKI

1. Najwyższą zawartość chlorofilu a i b w liściach wykazywały rośliny sałaty żywione $N-NH_4$.
2. Najbardziej zasobne w kwas L-askorbinowy były liście roślin żywionych $N-NO_3/NH_4$.

3. Przechowywanie sałaty w temp. 5°C wpłynęło na istotny spadek zawartości chlorofilu **a** w liściach w całym badanym okresie. Spadek zawartości chlorofilu **b** był istotny tylko po okresie 1 doby. Stosunek chlorofilu **a** : **b** w liściach wyraźnie obniżał się wraz z wydłużaniem czasu przechowywania liści, przy czym zawsze był wyższy u roślin opakowanych w folię niż nie opakowanych.

4. Zawartość kwasu L-askorbinowego w liściach sałaty obniżała się w tym większym stopniu, im dłużej i w wyższej temperaturze przechowywano liście.

5. Przechowywanie sałaty w woreczkach foliowych wpływało korzystnie na zawartość chlorofilu i kwasu L-askorbinowego w liściach. Wpływ opakowania liści w folię był tym większy im dłużej i w wyższej temperaturze przechowywano rośliny.

PIŚMIENNICTWO

- Arnon D. J., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- Bil' K. Ya., Fomina I. R., Shabnova N. J., 1987. Content of nitrogen compounds in maize shoots, structural and functional features of photosynthetic apparatus under ammonium and nitrate nutrition. *Photosynthetica* 21, 4: 525-534.
- Jeong J. C., Park K. W., Yang Y. J., 1990. Influence of packaging with high-density polyethylene film on the quality of leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. *Cheongchima*) during low temperature storage. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 31, 3: 219-225.
- Michalik H., Elkner K., 1987. Nawożenie a jakość warzyw. *Ogrodnictwo*, 11, 16-19.
- Nowacki E., 1977. Zmiany biochemiczne w roślinach intensywnie nawożonych. *Fizjologia i biochemia intensywnie nawożonych roślin*. Puławy 53-71.
- Nurzyński J., 1973. Wpływ makro- i mikroelementów na niektóre wskaźniki wartości odżywczej kapusty białej i jarmużu. Cz. II. Wpływ na zawartość witaminy C, karotenów i węglowodanów. *Roczn. Nauk Roln.* A, 99, 3: 67-78.
- Pijanowski E., Mroźewski S., Horubała A., Jarczyk A. 1973. Technologia produktów owocowych i warzywnych. PWRiL Warszawa, s. 130.
- Shaviv A., Hagin J., Neumann P. M., 1987. Effects of a nitrification inhibitor on efficiency of nitrogen utilization by wheat and millet. *Commun. Soil Sci. and Plant Anal.* 18, 8: 815-833.
- Sikora E., Międzybrodzka A., 1989. Wpływ niektórych czynników na zawartość azotanów i azotynów w korzeniach marchwi i bulwach ziemniaka w czasie przechowywania. Cz. II. Wpływ naturalnej zawartości witaminy C oraz niektórych metali. *Bromet. Chem. Tokykol.* XXII, 1: 52-56.
- Stanley R., 1989. The influence of temperature and packaging material on the post harvest quality of iceberg lettuce. *Acta Hort.* 244:171-180.
- Wang C. Y., Hinsh R. T., Kindy W. C., 1984. Effect of different perforations in polyethylene films on quality of head lettuce after transcontinental shipment. *Hort. Science* 19, 4: 584-586.
- Weissman G. S., 1964. Effect of ammonium and nitrate nutrition on protein level and exudate composition. *Plant Physiology* 39, 6: 947-952.

SUMMARY

An experiment was made with lettuce plants of 'Alka' variety fed with nitrogen in the form of $N-NO_3$, $N-NO_4$ or $N-NH_4$ in water cultures with artificial light. The purpose of the studies was to determine the influence of nitrogen form on the content of chlorophyll a and b and L-cervitamic acid in the leaves. Besides, the studies were to follow the changes in the content of these compounds in the chlorophyll a and b in the leaves was in plants fed with $N-NH_4$, while the plants fed with $N-NO_3/NH_4$ contained the greatest amount of L-ascorbic acid. Storing lettuce at the temperature of $5^\circ C$ caused a significant drop of the content of chlorophyll a, which after 24 hours was about 15%, after 2 day 20%, while after three days 30% in relation to the fresh leaves. A drop of the content of chlorophyll b was significant only after 24 hours.

The content of L-cervitamic acid in the leaves fell in the greatest degree during leaf storage at the temperature of $20^\circ C$, in a smaller degree at the temperature of $5^\circ C$, while in the smallest at the temperature of $1^\circ C$. The longer the leaves were stored, the greater losses in the content of L-ascorbic acid were at each of the temperatures. Storing lettuce in foil bags had a positive effect on the content of the analyzed substances independent of the temperature and time of storage.

1. Najwyższą zawartość chlorofilu a i b w liściach wykazywały rośliny zasilane $N-NH_4$.

2. Najbardziej znaczące spadki zawartości L-askorbinowego były u roślin zasilanych $N-NO_3/NH_4$.