
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. IX, SUPPLEMENTUM

SECTIO EEE

2001

Katedra Chemii
Katedra Warzywnictwa i Roślin Leczniczych¹
Akademii Rolniczej w Lublinie

IRENA PERUCKA, ANDRZEJ SAŁATA¹, MONIKA BOJANOWSKA

**Zawartość barwników chlorofilowych i antocyjanowych
w ogonkach liściowych wybranych odmian rabarbaru
(*Rheum rhaponticum* L.)**

Content of Chlorophyll and Anthocyanin Pigment in Selected Cultivars of Rhubarb
(*Rheum rhaponticum* L.)

Rabarbar ogrodowy *Rheum rhaponticum* L. jest rośliną znaną i wykorzystywaną przez człowieka już od kilku tysięcy lat. Jako roślina wieloletnia wywodząca się z terenów Azji Środkowej i Północnej doskonale przystosowała się do wzrostu na terenach o surowych i zróżnicowanych warunkach klimatycznych, czego przejawem jest występowanie ponad 38 gatunków. Nic więc dziwnego, że człowiek żyjąc w trudnych warunkach syberyjskich czy tybetańskich, szybko odkrył wartości lecznicze tej rośliny i zaczął stosować ją w różnych dolegliwościach zdrowotnych (Peigen i in., 1984).

W ogonkach liściowych rabarbaru z gatunków *Rheum undulatum* L. i *Rheum rhaponticum* L. występują różne barwniki roślinne: antocyjany, flawonoidy oraz niektóre kwasy polifenolowe jak kawowy i chlorogenowy. Ostatnie badania dowiodły, że wymienione barwniki roślinne mają duże znaczenie w profilaktyce przeciwnowotworowej i przeciwmiażdżycowej — przede wszystkim biorą one aktywny udział w antyoksydacyjnym systemie obronnym organizmu, przeciwdziałającym nagromadzeniu niekorzystnych wolnych rodników (Horbowicz, 1999; Kohlmünzer, 1993; Yoshitama i in., 1984).

Antocyjany są to czerwone, niebieskie lub fioletowe barwniki glikozydowe. Są głównymi barwnikami ogonków rabarbaru i odgrywają ważną rolę w rozwoju rośliny oraz uczestniczą w mechanizmach obronnych przeciwdzia-

lających chorobom, szkodnikom i różnego rodzaju stresom, na które narażone są rośliny. Poziom antocyjanów waha się w zależności od stopnia dojrzałości roślin, analizowanej odmiany oraz różnych czynników klimatyczno-uprawowych (Harborne, 1994).

Celem niniejszej pracy było zbadanie zawartości barwników chlorofilowych i antocyjanowych w ogonkach liściowych wybranych odmian rabarbaru.

MATERIAŁ I METODA

Ogonki przeznaczone do analiz pochodziły z 3 odmian rabarbaru (Wiśniowy, Purpurat, Wczesny Hosera), które pozyskiwano z roślin w 4 i 5 roku użytkowania plantacji, w pierwszej dekadzie maja, w latach 1997 i 1998. Rośliny wszystkich odmian uprawiano na poletkach doświadczalnych Katedry Warzywnictwa i Roślin Leczniczych AR Lublin w Felinie, w rozstawie $2,0 \times 1,5$ m. Do zbioru przeznaczono liście powyżej 20 cm długości oraz szerokości w połowie długości ogonka powyżej 1,5 cm.

W celu uzyskania materiału do analiz chemicznych wytypowano po cztery rośliny z każdej odmiany. Z każdej rośliny w kombinacji pozyskano po jednym liściu. Błazki liściowe obcinano na polu bezpośrednio po zbiorze, a ogonki liściowe cięto na odcinki o długości 2 cm, z których losowo pobierano materiał do analiz.

Oznaczanie chlorofilu. Badanie zawartości chlorofilu „a” i „b” oznaczano w ekstraktach acetonowych ogonków liściowych rabarbaru zgodnie z metodą Arnona (1960). Oznaczając wartość absorbancji przy długości 663 nm dla chlorofilu a i 645 nm dla chlorofilu b, spektrofotometrem Pye Unicam SP-9.

Badanie ilościowe antocyjanów. Sumę antocyjanów oznaczono ilościowo metodą Fuleki i Francis (1968). Metanolowe ekstrakty z ogonków rabarbaru zatężano do sucha a następnie rozcieńczano buforami o pH 1,0 i 4,5. Wartość absorpcji otrzymanych roztworów mierzono spektrofotometrem (jak wyżej) przy długości fali 510 nm. Zawartość sumy barwników antocyjaninowych obliczono stosując współczynnik absorpcji 775.

Wszystkie analizy chemiczne wykonano w 3-5 powtórzeniach. Otrzymane wyniki opracowano statystycznie metodą analizy wariancji. Istotność różnic oceniono testem Tuckeya z 5% prawdopodobieństwem błędu.

WYNIKI

Zawartość chlorofilu. Wyniki przeprowadzonych badań poziomu chlorofilu „a” i „b” w ogonkach liściowych rabarbaru odmiany Purpurat, Wczesny Hosera i Wiśniowy przedstawiono w tab. 2. Wykazano, że badane odmiany zawierały więcej chlorofilu „a” średnio o około 40% niż chlorofilu „b”. Opracowanie statystyczne wyników nie wykazało istotnego zróżnicowania pod

Tab.1. Dane meteorologiczne w okresie uprawy rabarbaru w latach 1997 i 1998
 Meteorological data from the period of rhubarb cultivation in 1997 and 1998

Miesiąc Month	Średnia dobową temperatura powietrza (°C) Mean daily air temperature (°C)		Suma opadów (mm) Total rainfall (mm)	
	1997	1998	1997	1998
Luty February	0,2	2,2	12,5	23,3
Marzec March	1,8	0,4	16,2	22,5
Kwiecień April	3,9	9,5	40,8	63,9
Maj May	13,9	13,8	83,1	49,6
Czerwiec June	16,8	17,5	5,9	61,5
Średnio/suma Mean/total	7,3	8,7	158,5	220,8

Tab. 2. Zawartość chlorofili w ogonkach liściowych wybranych odmianach rabarbaru
 w latach 1997 i 1998 ($\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$ świeżej masy)
 Chlorophyll content in leaf petioles of selected rhubarb cultivars in the years 1997 and 1998
 ($\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$ fresh weight)

Odmiana Cultivar	Chlorofil a Chlorophyll a			Chlorofil b Chlorophyll b			Chlorofil ogółem Total chlorophyll		
	1997	1998	średnio mean	1997	1998	średnio mean	1997	1998	średnio mean
Purpurat	3,85 a*	2,41 b	3,13	1,54 a	1,81 a	1,67	5,39	4,22	4,81
Wczesny Hosera	4,26 a	2,74 b	3,50	1,44 a	2,47 b	1,95	5,72	5,21	5,46
Wiśniowy	4,97 a	2,00 b	3,48	2,12 a	2,16 a	2,14	7,09	4,16	5,63
NIR _{0,05} LSD _{0,05}									
Lata Years			0,53			0,67			ni. ns.
Odmiany Cultivars			ni. ns.			ni. ns.			ni. ns.

* te same litery oznaczają brak różnic w obrębie wierszy
 the same letters mark no differences within rows

względem odmianowym, chociaż wśród badanych odmian zdecydowanie najniższy poziom chlorofili zanotowano u odmiany Purpurat, średnio o około 13% mniej niż w obu pozostałych.

Porównanie danych dotyczących zawartości chlorofili w ogonkach liściowych rabarbaru w latach 1997 i 1998 wykazało istotny wpływ warunków pogodowych. Stwierdzono, że zawartość chlorofilu „a” w roślinach badanych w 1997 był średnio o 45% wyższy niż w 1998. Natomiast zawartość chlorofilu „b” znajdowała się na podobnym poziomie w obu latach badań. Istotne zróżnicowanie w ilości tego składnika zanotowano jedynie u odmiany Wczesny Hosera, która w 1997 roku posiadała o 21% mniej chlorofilu „b” niż w roku 1998.

Poziom antocyjanów. Wyniki zawartości barwników antocyjanowych w ogonkach liściowych wybranych odmian rabarbaru przedstawiono w tab. 3. Otrzymane wyniki wykazały istotne statystycznie zróżnicowanie odmianowe tych składników. Najwyższą zawartość barwników antocyjanowych zanotowano u odmiany Wiśniowy, średnio dwukrotnie większą niż u Purpurat i Wczesny Hosera. Warunki pogodowe panujące w obu latach doświadczeń nie miały istotnego wpływu na poziom barwników antocyjanowych u badanych odmian rabarbaru.

W kolejnych latach badań stwierdzono znacznie większy wpływ warunków pogodowych na zróżnicowanie w zawartości suchej masy między ocenianymi odmianami rabarbaru (tab. 2). Ogonki liściowe odmiany Purpurat i Wiśniowy zawierały więcej suchej masy w roku 1997 niż w roku 1998.

DYSKUSJA

W przedstawionej pracy badano poziom fotosyntetycznych barwników roślinnych, którymi są chlorofile oraz antocyjany w wybranych odmianach rabarbaru. Chlorofile występują w dwóch formach: jako chlorofil „a” i jego forma utleniona chlorofil „b”. Poziom chlorofilu „a” w badanych odmianach wahał się średnio od 31 do 35 $\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ świeżej masy, zaś chlorofilu „b” od 17 do 21 $\text{mg} \times 100\text{g}^{-1}$ świeżej masy (tab. 2). Zawartość tych barwników w obu latach badań kształtowała się na różnym poziomie. W roku 1997 ogonki liściowe rabarbaru charakteryzowały się wyższą zawartością chlorofilu „a”, natomiast niższą chlorofilu „b” niż w roku 1998. Różnice te wynikały z odmianowych warunków pogodowych w obu latach doświadczeń. Rok 1998 charakteryzował się wyższą średnią miesięczną temperaturą powietrza i większą sumą opadów w okresie od lutego do marca niż rok 1997 (tab. 1). Należy

Tab. 3. Zawartość antocyjanów i suchej masy w ogonkach liściowych
wybranych odmian rabarbaru w latach 1997 i 1998Content of anthocyan and dry weight in leaf petioles
of selected cultivars of rhubarb in the years 1997 and 1998

Odmiana	Zawartość antocyjanów ($\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$ św. m)			Sucha masa (%)		
Cultivar	Anthocyan content ($\text{mg} \times 100 \text{ g}^{-1}$ f. w.)			Dry weight (%)		
	1997	1998	średnio mean	1997	1998	średnio mean
Purpurat	0,097	0,109	0,103 C**	6,37 a*	6,11 a	6,24 C
Wczesny Hosera	0,085	0,121	0,103 C	7,16 a	7,30 a	7,23 D
Wiśniowy	0,238	0,182	0,210 D	7,76 a	6,67 b	7,22 D
NIR _{0,05}	LSD _{0,05}					
Lata	ni.			0,263		
Years	ns.					
Odmiany	0,0142			0,295		
Cultivars						

* te same litery oznaczają brak różnic w obrębie wierszy
the same letters mark no differences within rows

** te same litery oznaczają brak różnic w obrębie kolumn
the same letters mark no differences within columns

przypuszczać, że w tych warunkach chlorofil „a” łatwiej ulegał utlenieniu do chlorofilu „b”. Potwierdzają to wyniki zawartości sumy chlorofilu „a” i „b” u badanych odmian rabarbaru, które nie różniły się istotnie w obu latach badań (tab. 2).

Brak istotnych statystycznie różnic w oznaczonej sumie chlorofilu pomiędzy odmianami dowodzi również, że ogonki liściowe były w tej samej fazie wzrostu, co umożliwiało porównanie ich składu chemicznego.

Wyniki badań zawartości antocyjanów przedstawione w tabeli 3 wykazały, że ich zawartość wahała się od $0,1 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ świeżej masy u odmiany Purpurat i Wczesny Hosera do $0,2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ świeżej masy u odmiany Wiśniowy, co odpowiadało $1,6$ i $2,8 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ suchej masy (dane nie wykazane). Antocyjany, podobnie jak karotenoidy i chlorofile, są głównymi barwnikami owoców i kwiatów, ale występują również w liściach (Simon, 1997). Dotychczas brak jest danych na temat zawartości antocyjanów w ogonkach liściowych rabarbaru. Informacje literaturowe dotyczące zawartości tych barwników w owocach innych roślin, np. w czerwonych śliwkach podają wartości 30 razy większe ($3-6 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ świeżej masy; Dussi i Sugar, 1995), w truskawkach

50-60 mg·100 g⁻¹ świeżej masy (Chang i Breen, 1991). Zawartość antocyjanów w jabłkach odmiany Starking była natomiast na podobnym poziomie jak w ogonkach rabarbaru i wynosiła od 0,5 do 6,0 mg·100 g⁻¹ suchej masy (Gomez-Cordoves i in., 1991).

Uzyskane wyniki badań pozwalają sugerować, że rabarbar, jedno z najwcześniejszych w uprawie polowej warzyw w Polsce, jest zarazem jednym z pierwszych źródeł antocyjanów dostarczanych do diety człowieka.

WNIOSKI

1. Z testowanych odmian rabarbaru: Purpurat, Wczesny Hosera i Wiśniowy — najkorzystniejsze cechy jakościowe pod względem zawartości antocyjanów i suchej masy stwierdzono u odmiany Wiśniowy.

2. Nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości chlorofili między badanymi odmianami.

3. Warunki pogodowe miały istotny wpływ na poziom chlorofilu „a” i suchej masy. W roku 1997 stwierdzono wyższą zawartość tych składników w ogonkach liściowych rabarbaru niż w roku 1998.

PIŚMIENNICTWO

- Arnon M. J., 1960. Chemistry and biochemistry of plant pigments. Goodwin T. W., London. Academic Press.
- Chang G. W., Breen P. J., 1991. Activity phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 116: 866-869.
- Dussi M. C., Sugar D., 1995. Characterising and quantifying anthocyanins in red pears and the effect of light quality on fruit color. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 120: 785-789.
- Fuleki T., Francis F. J., 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice. *J. Food Sci.*, 33: 78-83.
- Gomez-Cordoves C., Varela F., Larrigaudiere Ch., Vendrell M., 1996. Effect of ethephon and seniphos treatments on the anthocyanin composition of Starking apples. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 3449-3452.
- Harborne J. B., 1994. The flavonoids. Chapman and Hall, London.
- Horbowicz M., 1999. Występowanie i właściwości biologiczne kwercetyny. *Ogrodnictwo* 5: 25-28.
- Kohmünzer G., 1993. Farmakognozja. PZWŁ, Warszawa: 185-186.
- Peigen X., Liyi H., Liwei W., 1984. Ethnopharmacologic study of Chinese rhubarb. *J. Ethnophar.* 10: 275-293.

- Simon P. W., 1997. Plant pigments for color and nutrition. HortScience, 32: 12-13.
- Yoshitama K., Hisada M., Ishikura N., 1984. Distribution pattern of anthocyanins in the Polygonaceae. Bot. Mag. Tokyo, 97: 31-38.

SUMMARY

In the years 1997 and 1998 the content of chlorophyll and anthocyan pigment in three cultivars of *Rheum rhaponticum* L. was evaluated. All of the investigated cultivars — Purpurat, Wczesny Hosera and Wiśniowy came from domestic reproduction. Anthocyanins and chlorophylls were extracted from fresh leaf petioles harvested at the same time. The differences in chlorophyll contents were not significant. From among the cultivars tested the highest value of anthocyanin pigment was obtained in cv. Wiśniowy ($0.2 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ f.m.}$).