

"Zbornik radova", Sveska 38, 2003.

**VARIJABILNOST SADRŽAJA UKUPNIH GLUKOZINOLATA U
RAZLIČITIM GENOTIPOVIMA OZIME ULJANE REPICE
(*B. napus ssp. oleifera*)**

*Marinković, R., Škorić, D., Sakač, Z.,
Marjanović-Jeromela, Ana, Sekulić, P.¹*

IZVOD

U semenu 60 genotipova ozime uljane repice analiziran je sadržaj ulja, proteina i glukozinolata. Sadržaj ulja određen je po Soxlett-u, sadržaj proteina određen je preko sadržaja azota, množenjem sa koeficijentom 6,25, a sadržaj glukozinolata preko sadržaja sumpora u osušenom semenu uljane repice. Sadržaj ulja kretao se od 31 do 49%, sadržaj proteina kretao se od 15,4 do 31,6%, a ukupan sadržaj sumpora od 2,6 do 11,6 mg/g semena. Genotipovi sa niskim sadržajem sumpora (odnosno ukupnih glukozinolata), a visokim sadržajem proteina biće uključeni u selekциони program.

KLJUČNE REČI: uljana repica, genotipovi, sadržaj proteina, ukupan sadržaj glukozinolata, eruka kiselina.

Uvod

U svetu setvene površine pod uljanom repicom, jarom ili ozimom formom, u poslednjih 6 godina, 1996-2001. godine, kretale su se od 21.780.675 ha u 1995/96. god. do 27.827.006 ha 1998/99. god. (Tabela 1). Sa prosečnim prinosom od 1,39 t/ha u 1997/98. godini do 1,56 t/ha u 1998/99. godini svrstala se na treće mesto među najvažnijim uljanim biljkama (Tabela 2).

U nekim zemljama sveta je jedina uljana biljka. Posebno značajni proizvođači uljane repice su Kina, Indija i Kanada. U Evropi, severne zemlje uljarsku industriju baziraju uglavnom na proizvodnji uljane repice.

Seme uljane repice je čoveku odavno koristilo za dobijanje ulja, ali zbog visokog udela dugolančanih nezasićenih masnih kiselina, eruka i linolenske, a niskog sadržaja oleinske i linolne, ono je korišćeno uglavnom u tehničke svrhe. Negativan uticaj glavnog sastojka ulja neoplemenjene uljane repice - eruka

1 Dr Radovan Marinković, dr Dragan Škorić, mr Zvonimir Sakač, dr Ana Marjanović-Jeromela i dr Petar Sekulić, Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

kiselina, ogledalo se u izazivanju lipidaze u srčanom mišiću opitnih životinja i patološkim promjenama na nekim drugim organima (testisima, ovarijumima, jetri) (Šehović i sar., 1980).

Tab. 1. Površine najvažnijih uljanih biljaka u svetu (FAO Stat).

Tab. 1. Area of the most important oil plants in the world (FAO Stat).

Biljka Plant	Godina - Year					
	1995/96.	1996/97.	1997/98.	1998/99.	1999/00.	2000/01.
Soja Soybean	61081657	66947742	70976129	71890029	74150573	76368403
Ulj. repica Rape	21780675	23557519	25938245	27827006	26180348	24014608
Suncokret Sunflower	20438029	18753578	20695661	23242545	20976949	18125807
Kikiriki Groundnut	22542515	22518051	23436940	23477490	23539668	25101680
Palma Palm	8376885	8659721	8995229	9283499	9633501	9652801
Pamuk Cotton	34533000	33868477	33426637	32570387	31876047	33885655

Tab. 2. Prinos najvažnijih uljanih biljaka u svetu (FAO Stat).

Tab. 2. Yield of the most important oil plants in the world (FAO Stat).

Biljka Plant	Godina - Year				
	1996/97.	1997/98.	1998/99.	1999/00.	2000/01.
Soja Soybean	2,18	2,25	2,19	2,18	2,34
Ulj. repica Rape	1,50	1,39	1,56	1,54	1,51
Suncokret Sunflower	1,24	1,21	1,24	1,24	1,16
Kikiriki Groundnut	1,32	1,47	1,35	1,42	1,37
Palma Palm	11,42	10,90	12,03	12,22	12,23
Pamuk Cotton	1,60	1,55	1,63	1,73	1,76

Međutim, familija krstašica ili krucifera u koju spada i ozima uljana repica karakteriše se sadržajem specifične grupe sumpornih jedinjenja glukozinolata. Prva saznanja o specifičnosti glukozinolata i izotiocijanata potiču još iz 17 veka. Prvi iz niza glukozinolata, sinigrin, izolovan je iz *Brasica nigra*, još 1830 godine. Do 1948. godine bilo je poznato oko 9 vrsta glukozinolata, do 1960. godine njihov broj je narastao do 70, a danas je poznato preko 150 vrsta.

Glukozinolati su b-tioglukozid N-hidroksisulfati (poznati i kao cis-N-hidroksiiminosulfatni estri, ili S-glukopiranozil tiohidroksimati), sa bočnim lancem (R) vezanim preko sumporne veze sa β -D-glukopiranoznim delom. Prema Van Etten i Wolff (1973), Underhill i sar. (1973) i Kjaer (1976) različitost između tih jedinjenja potiče od bočnih lanaca. Glukozinolati čine homogenu porodicu od preko 100 jedinjenja, prisutnih uglavnom u *Brassicaceae* familiji, sa različitom hemijskom konformacijom, koja je uslovljena strukturom bočnog lanca, a koji može biti alifatičan, aromatičan ili indolni. Glukozinolati su šećerni anjonski tioestri, koji se lako mogu hidrolizovati pomoću enzima *mirozinaza*, dajući stehiometrijsku količinu D-glukoze, HSO_4^- jon, i čitav niz različitih aglikona, kao što su izotiocijanati, nitrili, tiocijanati, oksazolidin-2-tioni, itd. Proizvodi enzimske degradacije glukozinolata, zbog svoje veće ili manje toksičnosti, čine sačmu uljane repice gorkom, neukusnom pa čak i opasnom po zdravlje životinja. Enzim *mirozinaza* je, kao i glukozinolati, prisutan u svim pripadnicima *Brassicaceae* biljne vrste, a najviše ga ima u semenu, gde se i sintetizuje u endoplazmatičnom retikulumu.

U donjoj tabeli kao primer, navedeni su neki od glukozinolata, kao i njihovi odgovarajući izotiocijanati, proizvodi enzimske degradacije, odnosno, navedeno je njihovo toksično dejstvo na organizam (Lein, 1970).

Glukozinolati	Izotiocijanati	Toksično dejstvo izotiocijanata
Progoitrin	5-vinil-2-oksazolidintion	Narušava funkciju jetre
Glikonapin	3-butenilizotiocijanat	Narušava funkciju tiroidne žlezde
Glikobrasiconapin	4-pentolizotiocijanat	Narušava funkciju tiroidne žlezde

U semenu uljane repice, najzastupljeniji su sledeći glukozinolati:

Glukozinolati	Izotiocijanati	Toksično dejstvo izotiocijanata	
Progoitrin	Epiprogoitrin	Glukonapoleiferin	Glukonapin
4-OH glukobrassicin	Glukobrassicinapin	Glukobrassicin	Glukonasturtiin
Glukoiberin	Sinigrin	Glukoraphanin	Neoglukobrassicin
4-Metilglukobrassicin	Glukoalysin	Glukotropacolin	

Zbog njenog širokog areala rasprostranjenosti u zoni umerenog klimata kao i pozitivnih proizvodnih svojstava (uticaj na higijenu tla, iskorišćavanje u zelenom stanju itd) uslovalo je da oplemenjivači usredsrede svoje aktivnosti na izmenu i sastav viših masnih kiselina u uljanoj komponenti semena kao i da smanje sadržaj nepoželjnih sumpornih jedinjenja - glukozinolata iz proteinske komponente semena.

Materijal i metode rada

U eksperimentima analiziran je sadržaj ulja, proteina i glukozinolata u semenu 60 genotipova ozime uljane repice, iz selekcionog programa Zavoda za uljane kulture, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, sa ciljem da se izvrši selekcija postojećeg materijala i odaberu za dalju selekciju i oplemenjivanje genotipovi sa visokim sadržajem proteina i visokim sadržajem ulja, a niskim sadržajem glukozinolata u semenu. Sadržaj ulja određen je po Soxhlet-u,

ekstrakcijom uzorka petrol-etrom (60-70°C) (oko 3g samlevenog semena) u tri ponavljanja. Sadržaj proteina određen je preko sadržaja azota, množenjem sa koeficijentom 6,25, što je uobičajena praksa u mnogim laboratorijama. Faktor konverzije (6,25) je izveden na osnovu pretpostavke da proteini sadrže oko 16% azota (Draper, 1976).

Do sadržaja ukupnih glukozinolata se došlo na osnovu sadržaja sumpora (miligrami po gramu semena, odnosno, obezmašćene pogače), u osušenom semenu uljane repice i literaturnih podataka koji koreliraju sadržaj sumpora sa mogućim sadržajem ukupnih glukozinolata (u $\mu\text{mol/g}$ semena, odnosno obezmašćene pogače) (Schnung, 2000). Sadržaj azota i sumpora određen je iz obezmašćenog, samlevenog i spraćenog uzorka na aparatu za određivanje CHNS elementarne mikroanalize VarioEL, (Elementar Analysensystem GmbH). Ovi rezultati će dalje poslužiti kao polazna osnova za primenu i dalju razradu drugih metoda za određivanje sadržaja pojedinačnih glukozinolata (Fahey, 2000; AOCS, 1993).

Rezultati i diskusija

Rezultati određivanja sadržaja tri najvažnija parametra za selekciju uljane repice, potvrdila su naše pretpostavke o postojanju dosta široke genetske divergentnosti između ispitivanih 60 genotipova uljane repice.

Tab. 3. Rezultati određivanja sadržaja ulja, proteina i ukupnih glukozinolata u semenu i obezmašćenju pogači 60 genotipova uljane repice.

Tab. 3. The result of determination of oil, protein and total glycosinolates content in 60 genotypes of rapeseed seed and deffated cakes.

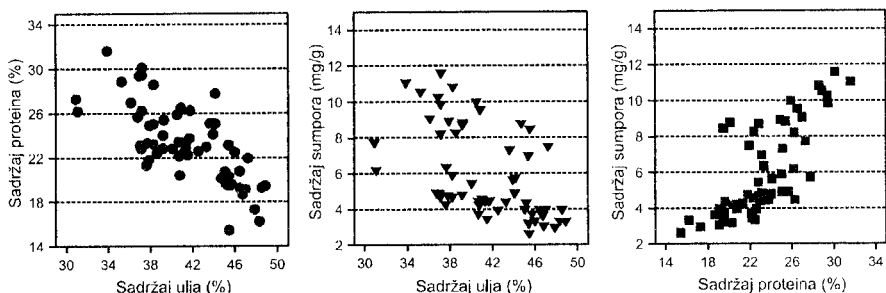
	Sadržaj - Content	
	Seme - Seed	Pogača - Oil cake
Ulje (%) - Oil (%)	31 - 49	31 - 49
Proteini (%) - Protein (%)	15,43 - 31,63	32,8 - 47,9
Sumpor (mg/g) - Sulphur (mg/g)	2,63 - 11,59	5,68 - 18,47
Sadržaj ukupnih glukozinolati (izračunato preko sadržaja sumpora) $\mu\text{mol/g}$ Content of glucosinolate $\mu\text{mol/g}$	9,44 - 111,26	27.60 - 177.30

Dvadesetak ispitivanih genotipova poseduju dobar potencijal za prinos ulja, sa sadržajem od preko 45%. Sadržaj proteina se kod većine genotipova kreće u nekim srednjim granicama (20 do 26% u odnosu na suvo seme), sa manjim brojem (svega 6 genotipova, kod kojih je sadržaj proteina iznad 29%). Sumpor, kao pokazatelj mogućeg sadržaja glukozinolata daje povoljniju sliku, u smislu selekcije, jer preko 35 ispitivanih genotipova imaju manji sadržaj sumpora od 5 mg/g suvog semena, što bi bilo ekvivalentno sadržaju glukozinolata nižem od 25 $\mu\text{mol/g}$ suvog semena. Rezultati su prikazani u Tabeli 3.

Grafičkom analizom međusobnih zavisnosti dobijenih podataka, dolazimo do sledećih zaključaka. Grafički prikaz sadržaja ulja u zavisnosti od sadržaja proteina (Slika 1, levo) ima gotovo linearni izgled, što znači da je povećanje

sadržaja ulja gotovo linearno praćeno sa smanjenjem sadržaja proteina i obrnuto. Slična situacija je i kada se analizira grafićki prikaz sadržaja proteina u zavisnosti od sadržaja sumpora. Tendencija je slična, povećanje sadržaja proteina je skoro linearno praćeno povećanjem sadržaja sumpora (Slika 1, desno).

Međutim, kada se posmatra sadržaj ulja u funkciji sadržaja sumpora (glukozinolata) (Slika 1, sredina), može se lako uoćiti grupa od 15 genotipova sa visokim sadržajem ulja (iznad 45%), a ujedno niskim sadržajem sumpora (glukozinolata) (nižim od 4 mg/g semena). Ta grupa genotipova je potencijalno



Sl. 1. Grafićki prikaz korelacija sadržaja ulja, proteina i glukozinolata za 60 genotipova uljane repice

Fig. 1. Graphical presentation of correlation between oil, protein, and glucosinolates content in 60 rapeseed genotypes.

interesantna za dalju selekciju.

ZAKLJUČAK

Primenom savremenih analitićkih metoda, određena je elementarna mikroanaliza (CHNS) uzoraka semena genotipova ozime uljane repice, odabranih iz postojećeg selekcionog programa. Dobijeni rezultati su preraćunati u sadržaj proteina i sadržaj glukozinolata, u suvom semenu, kao i u obezmašćenoj pogaći, zaostaloj posle ekstrakcije ulja.

Sadržaj ulja kretao se od 31 do 49%, sadržaj proteina kretao se od 15,4 do 31,6%, a ukupan sadržaj glukozinolata od 9,4 do 111,2 mmol/g semena. Grafićkim predstavljanjem zavisnosti sadržaja ulja u semenu sa sadržajem sumpora (glukozinolata), došlo se do veoma interesantnog podatka o postojanju veće grupe genotipova ozime uljane repice sa sadržajem ulja iznad 45%, a ujedno i sadržajem sumpora manjim od 4 mg/g semena. Takvi genotipovi su najinteresantniji za selekciju i svakako će biti uključeni u dalji selekcioni program.

Napomena

Rad je nastao na osnovu istraživanja u okviru projekta BRT.5,02,0421.B finansiranog od Ministarstva za nauku, tehnologije i razvoj Republike Srbije.

LITERATURA

- AOCS Official Method Ak 1-92, (1993): Determination of Glucosinolate content in Rapeseed (Colza) by HPLC, pp 1-6.
- Fahey, J. W., Zalcmann, A. T., Talalay, P., (2001): The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56: 5-51.
- FAO STAT (1998): Statistics database, Agriculture, Agriculture production, Crops primary, web adress: <http://apps.fao.org>.
- Schnung, E., Hameklaus, S., Schimmel, H., Linsinger, T., Mabon, N., Marlier, M., Wathelet, J. P., (2000): Standard reference materials for total sulfur and glucosinolates. In: C. Brunold et al. (Eds.), *Sulfur Nutrition and Sulfur Assimilation in Higher Plants*, Paul Haupt, Bern Switzerland, pp 251-253.
- Šehović, Đ., K. Jovanović, V. Bašić, B. Koludrović, Lj. Stojak, Lj. Lešić, I. Balzer, V. Hrust, (1980): *Hrana i ishrana*, 21(3-4):47-49.
- Simon R. Draper, (1976): *Biochemical Analysis in Crop Science*. Oxford University Press, pp 1-130.
- Wathelet, J. P., Mabon, N., Marlier, M., (1999): Determination of glucosinolates in rapeseed improvement of the official HPLC ISO method (Precision and speed). *Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress*, Canberra, Australia, 1-6.

VARIABILITY IN TOTAL SEED GLUCOSINOLATE CONTENT IN DIFFERENT RAPESEED GENOTYPES

*Marinković, R., Škorić, D., Sakač, Z.,
Marjanović-Jeromela, Ana, Sekulić, P.*

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

SUMMARY

Seeds of 60 genotypes of winter rapeseed have been analyzed for oil, protein and glucosinolate contents. Oil content was determined by Soxhlet method, protein content was determined based on an estimation of the nitrogen in seed. multiplying result with coefficient 6.25. Glucosinolate content was determined by a modified AOCS method, based on an estimation of the sulfur in seed. Oil content ranged from 31 to 49%, protein contents ranged from 15.4 to 31.6%, total sulfur contents from 2.6 to 11.6 mg/g of dry seed. The genotypes with low sulfur content (glucosinolate level) and high protein level have been selected for further breeding.

KEY WORDS: rapeseed, genotypes, protein content, glucosinolates content, erucic acid.