

## ВАРІОВАННЯ ВМІСТУ $\beta$ -КАРОТИНУ В ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ В ПРОЦЕСІ ЙОГО ЗБЕРІГАННЯ \*

**Т. М. Сатарова**, доктор біологічних наук;

**В. В. Борисова**, кандидат сільськогосподарських наук;

**Ю. О. Гончаров**

*ДУ Інститут зернових культур НААН України*

**Чжан Цзюймэй**, кандидат біологічних наук;

**Цзинь Хуй**, кандидат сільськогосподарських наук

*Китайсько-Російський центр з науково-технічного співробітництва в галузі сільського господарства Хейлунцзянської академії сільськогосподарських наук, м. Харбін, Китайська Народна Республіка*

*Наведено результати визначення вмісту  $\beta$ -каротину в зерні ліній та гібридів кукурудзи в процесі зберігання. Проведені дослідження висвітлюють особливості впливу генотипу, умов року вирощування і терміну зберігання на вміст  $\beta$ -каротину в зерні. Для порівняльного аналізу селекційних зразків кукурудзи за здатністю до накопичення  $\beta$ -каротину рекомендовано використовувати зерно врожаю одного і того ж року з однаковим терміном зберігання.*

**Ключові слова:** кукурудза,  $\beta$ -каротин, лінія, гібрид, зберігання зерна.

Каротиноїди являють собою широко розповсюджений клас жовтих, помаранчевих або червоних пігментів, виявлених у природі. На сьогоднішній день відомо більше 800 видів каротиноїдів [1]. Розрізняють дві групи каротиноїдів: каротини та ксантофіли. Каротини – вуглеводні, які мають у своєму складі лише атоми вуглецю та водню. Ксантофіли – кисне-вмісні похідні каротинів, які, крім атомів вуглецю та водню, містять атоми кисню [2–4]. У рослинному організмі каротиноїди беруть участь в організації і функціонуванні основних комплексів реакційних центрів фотосистем [5], у той час як ксантофіли задіяні в організації допоміжних світлозбиральних комплексів фотосистем [6]. Каротиноїди – нестабільні з'єднання, які деградують за впливу високих температур, світла та наявності кисню. Каротини можуть перетворюватись на вітамін А, попередниками якого є  $\alpha$ -каротин,  $\beta$ -каротин і  $\beta$ -криптоксантин. Одна молекула  $\beta$ -каротину може перетворитись у дві молекули вітаміну А. Каротиноїди відіграють важливу роль в підтриманні здоров'я людини за рахунок антиоксидантної активності та як попередники вітаміну А [7].

Кукурудза накопичує в зерні значну кількість каротиноїдів. Найбільше їх міститься в ендоспермі зернівки [8] і розподілені вони наступним чином: 74–86 % – у скловидному, а 9–23 % – у мучнистому шарі ендосперму, 2–4 % – у зародку та 1 % – в оплодні [9].

Кількість загальних каротиноїдів у зерні кукурудзи коливається в межах від 0,15 до 51,4 мкг/г у перерахунку на суху речовину, вміст окремих каротиноїдних сполук у ньому варіює наступним чином:  $\beta$ -каротин – 0,07–7,64 мкг/г,  $\beta$ -криптоксантин – 0,07–4,9, лютеїн – 0,00–27,59, зеаксантин – 0,01–30,7 мкг/г [10–11].

Накопичення каротиноїдів у зерні кукурудзи відбувається під час розвитку ендосперму [12] – починається на 10–15-ту добу після запилення і залежно від сорту досягає максимуму на 20–25-ту добу [13]. Біосинтез каротиноїдів закінчується до настання фізіологічної стиглості зерна, після чого їхня концентрація змінюється внаслідок втрати зерном вологи [14]. Слід відзначити, що вплив умов зберігання на вміст каротиноїдів в зерні різних гено-типів кукурудзи досліджений фрагментарно.

Мета наших досліджень полягала у визначенні вмісту  $\beta$ -каротину у зерні ліній та гібридів кукурудзи залежно від термінів зберігання. Були використані дві лінії різних років

---

\* Роботу виконано за проектом "Спільна лабораторія з науково-технічного співробітництва в галузі сільського господарства між Китаєм, державами СНД та Центрально-Східної Європи" (2016AE6AE001) в рамках договору про співробітництво від 17.06.2012 між Хейлунцзянською академією сільськогосподарських наук (КНР) та Інститутом зернових культур НААН України.

збирання: ДК239 – 2011 і 2015 рр. й ДК633/325МВ – 2014, 2015 і 2016 рр. та два простих гібриди: ДН Софія і Почаївський 190 МВ – врожай 2014 та 2015 рр. відповідно. Аналіз вмісту  $\beta$ -каротину проводили для всіх зразків у листопаді 2016 р. Тобто зерно лінії ДК239 на час проведення аналізу зберігалось впродовж 1 і 5 років, лінії ДК633/325МВ – 0,08; 1 та 2 років, гібрида ДН Софія – 1 і 2 років, гібрида Почаївський 190 МВ – також 1 і 2 роки. Зберігали зерно при температурі 5 °С у темряві.

Вміст  $\beta$ -каротину визначали методом ультраефективної рідинної хроматографії (UPLC-аналіз) за допомогою пристрою Xevo TQ-S (StepWave™, USA) на базі Хейлунцзянської академії сільськогосподарських наук (м. Харбін, Китайська Народна Республіка) у листопаді 2016 р. Екстракцію  $\beta$ -каротину з зерна повної стиглості проводили петролейним ефіром за відповідною методикою [15]. Наважку розмеленої проби (5 г) нагрівали з 30 мл етилового спирту та 20 мл 50 %-ного водного розчину КЛОН на киплячій водянній бані протягом 30 хв. Потім колби з пробами охолоджували у льодяній воді до кімнатної температури і, доливши в кожную з них 50 мл дистильованої води, переносили до ділильної воронки. Далі додавали 100 мл петролейного ефіру, інтенсивно струшували і після відстоювання залишали ефірну фракцію; цю маніпуляцію повторювали тричі. Фракцію петролейного ефіру промивали дистильованою водою до рН 7,0. Фільтрували фракцію петролейного ефіру через знежирену бавовну з безводним сульфатом натрію. Рідку фракцію випаровували при 37 °С. Сухі залишки, що містили  $\beta$ -каротин, розчиняли в 5 мл суміші метанол/ацетонітрилу (9:1 за об'ємом), потім цей розчин фільтрували за допомогою 0,22 мкл полівінілденфториду шприцом в скляні флакони з гвинтовою кришкою для автоматичного відбору проб у хроматографі.

У процесі аналізу використовували хроматографічну колонку С18 для визначення вмісту  $\beta$ -каротину у рухомій фазі метанол/ацетонітрил. UPLC-аналіз проводили при швидкості введення зразка 0,5 мкл/хв. Детекцію  $\beta$ -каротину здійснювали при 448 нм. Вміст  $\beta$ -каротину визначали у двох аналітичних повтореннях і наводили у мкг на 1 г сухого зерна (мкг/г) за стандартної вологості. Одержані дані обробляли статистично за відповідними методиками [16]. Результати в таблицях наведені у вигляді  $x \pm \Delta_{0,05}$ , де  $x$  – середнє арифметичне значення показника,  $\Delta_{0,05}$  – довірчий інтервал на рівні значущості 0,05, причому  $\Delta = mt_{0,05}$ , де  $m$  – похибка середнього арифметичного,  $t$  – критерій Ст'юдента на рівні значущості 0,05.

Вміст в зерні ліній кукурудзи ДК239 та ДК633/325МВ різних термінів зберігання наведений в таблиці 1.

### 1. Вміст $\beta$ -каротину в зерні ліній кукурудзи

Лінія	Рік врожаю	Термін зберігання зерна, років	Вміст $\beta$ -каротину, мкг/г
ДК239	2011	5	0,54 $\pm$ 0,10
	2015	1	1,61 $\pm$ 0,01
ДК633/325МВ	2014	2	0,54 $\pm$ 0,01
	2015	1	0,61 $\pm$ 0,03
	2016	0,08	0,59 $\pm$ 0,03

Результати досліджень свідчать, що в зерні проаналізованих ліній кількість  $\beta$ -каротину коливалася від 0,54 до 1,61 мкг/г. Діапазон коливання за роками досліджень для ДК239 становив 0,54–1,61 мкг/г, а ДК633/325МВ – лише 0,54–0,61 мкг/г. Щодо лінії ДК239, то за вмістом  $\beta$ -каротину простежувалась достовірна відмінність між зерном врожаю 2011 р., яке до аналізу зберігалось 5 років, та зерном зібраним в 2015 р. з терміном зберігання 1 рік. У першому випадку його кількість була в 3 рази більшою, ніж у другому. В зерні лінії ДК633/325МВ (врожай 2014 р.)  $\beta$ -каротину було більше порівняно з кількісними показниками зерна врожаю 2015 і 2016 рр. – у 1,13 та 1,10 рази відповідно. Порівняльний аналіз вмісту  $\beta$ -каротину в зерні ліній ДК239 і ДК633/325МВ (врожай 2015 р.) показав, що в зерні

першої лінії його було більше у 2,6 раза. Можна припустити, що кращі умови для накопичення  $\beta$ -каротину рослинами лінії ДК633/325МВ, при порівнянні трирічних даних, були в 2015 р. Однак слід відзначити, що зерно врожаю 2015 р. зберігалось 1 рік до проведення аналізу в листопаді 2016 р.

Аналіз зерна гібридів ДН Софія і Почаївський 190МВ врожаю 2014 та 2015 рр. також свідчить про відмінності за вмістом  $\beta$ -каротину в зразках зерна різних термінів зберігання (табл. 2).

## 2. Вміст $\beta$ -каротину в зерні простих гібридів кукурудзи

Гібрид	Рік врожаю	Термін зберігання зерна, років	Вміст $\beta$ -каротину, мкг/г
ДН Софія	2014	2	1,22 $\pm$ 0,21
	2015	1	1,63 $\pm$ 0,24
Почаївський 190МВ	2014	2	0,60 $\pm$ 0,01
	2015	1	0,42 $\pm$ 0,01

Вміст  $\beta$ -каротину в зерні проаналізованих гібридів варіював від 0,42 до 1,63 мкг/г. За результатами дворічних спостережень його кількість в зерні гібрида ДН Софія суттєво перевищувала показники гібрида Почаївський 190МВ. Достовірної відмінності за вмістом  $\beta$ -каротину в зерні, зібраному в різні роки, відносно гібрида ДН Софія не встановлено. Щодо гібрида Почаївський 190МВ, за роками виявлено достовірну різницю за досліджуваним показником – в зерні врожаю 2014 р. вміст  $\beta$ -каротину був у 1,43 раза вищий, ніж в зерні врожаю 2015 р. Вміст  $\beta$ -каротину в зерні гібрида ДН Софія був вищий порівняно з гібридом Почаївський 190МВ майже в 2 рази – зразки зерна урожаю 2014 р. і майже в 3 рази – 2015 р. Це вказує на різну інтенсивність втрати  $\beta$ -каротину зерном залежно від генотипу.

F. W. Quackenbush та ін. [17] висвітлили результати досліджень щодо зміни вмісту каротиноїдів у зерні кукурудзи за різних умов сушіння. Низкою науковців [18–20] встановлено поетапне зменшення концентрації каротиноїдів у зерні кукурудзи при зберіганні. Зокрема E. J. Weber [20] повідомляв, що втрати каротиноїдів у чотирьох інбредних ліній кукурудзи по закінченню 6-місячного терміну зберігання зерна за кімнатної температури в середньому були на рівні 42 %. Отже, одержані нами дані в цілому збігаються з описаною іншими авторами динамікою зміни вмісту  $\beta$ -каротину в зерні кукурудзи при зберіганні.

Аналізуючи одержані дані, можна зробити припущення, що одна і та ж лінія чи гібрид в різні роки вирощування синтезували і накопичували приблизно однакову кількість  $\beta$ -каротину. Звідси, зміна його вмісту в процесі зберігання в основному зумовлена тривалістю зберігання. Простежується загальна тенденція до зменшення вмісту  $\beta$ -каротину зі збільшенням терміну зберігання зерна. Разом з тим встановлено, що генотип суттєво впливає на кількість  $\beta$ -каротину в зерні залежно від терміну його зберігання.

Випадок, коли вміст  $\beta$ -каротину в зерні гібрида Почаївський 190МВ, що зберігалось впродовж 2 років (2014–2016 рр.), був дещо вищий, ніж у зерні з терміном зберігання лише 1 рік (2015–2016 рр.), можна пояснити тим, що в 2014 р. на момент збирання врожаю і закладання його на зберігання,  $\beta$ -каротину в зерні було більше, ніж в аналогічний період 2015 р. Це дає підставу припустити, що умови вирощування рослин кукурудзи також суттєво впливають на вміст  $\beta$ -каротину в зерні.

Отже, для порівняльного аналізу особливостей накопичення  $\beta$ -каротину в зерні різних ліній і гібридів необхідно використовувати зразки зерна одного і того ж року вирощування, бажано одразу після збирання врожаю. У зв'язку з цим селекціонерам варто спрямувати свої зусилля на послаблення процесів деградації  $\beta$ -каротину в зерні гібридів кукурудзи, як мінімум – протягом одного року, з метою збереження кормової цінності зернової продукції.

Безпосереднє визначення  $\beta$ -каротину в зерні різних селекційних зразків може тільки опосередковано свідчити про потенціал генотипу щодо накопичення  $\beta$ -каротину і робить

більш доцільним урахування при доборі сприятливого алельного стану ключових генів каротиногенезу.

### Бібліографічний список

1. Карнаухов В. Н. Биологические функции каротиноидов / Карнаухов В. Н. – М.: Наука, 1988. – 240 с.
2. Ладыгин В. Г. Биосинтез каротиноидов в пластидах растений / В. Г. Ладыгин // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 10. – С. 1317–1333.
3. Ладыгин В. Г. Современные представления о путях биосинтеза каротиноидов в хлоропластах эукариот / В. Г. Ладыгин // Журн. общей биол. – 2002. – Т. 63, № 4. – С. 299–325.
4. Britton G. Overview of carotenoid biosynthesis / G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander // Carotenoids: biosynthesis and metabolism. – Basel; Boston; Berkhauser Verlag, 1998. – Vol. 3. – P. 13–147.
5. Hashimoto A. The 2 Ag state of carotenoid bound to spinach chloroplast as revealed by picosecond transient Raman spectroscopy / A. Hashimoto, Y. Koyama // Biochim. Biophys. Acta. – 1990. – Vol. 1017, N 2. – P. 181–186.
6. Configuration and dynamics of xanthophylls in light-harvesting antennae of higher plants. Spectroscopic analysis of isolated light-harvesting complex of photosystem II and thylakoid membranes / [A. V. Ruban, A. P. Pascal, B. Robert, P. Horton] // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276, N 27. – P. 24862–24870.
7. Vallabhaneni R. Timing and biosynthetic potential for carotenoid accumulation in genetically diverse germplasm of maize / R. Vallabhaneni, E. T. Wurtzel // Plant Physiology. – 2009. – Vol. 150, N 2. – P. 562–572.
8. Biochemical and ultrastructural analysis of the  $\gamma 10$  mutant of maize / [D. Janick-Buckner, D. J. Hammock, J. M. Osborn, B. Buckner] // The Journal of Heredity. – 1999. – Vol. 90, N 5. – P. 507–513.
9. Blessin C. W. Carotenoids of corn and sorghum. V. Distribution of xanthophylls and carotenes of yellow dent corn / C. W. Blessin, J. D. Brecher, R. J. Dimler // Cereal Chemistry. – 1963. – Vol. 40. – P. 582–586.
10. Kurilich A. C. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays* / A. C. Kurilich, J. A. Juvik // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1999. – Vol. 47, N 5. – P. 1948–1955.
11. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols / [C. O. Egesel, J. C. Wong, R. J. Lambert, T. R. Rochford] // Crop Science. – 2003. – Vol. 43, N 3. – P. 818.
12. Bartley G. E. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health / G. E. Bartley, P. A. Scolnik // The Plant Cell. – 1995. – Vol. 7, N 7. – P. 1027–1038.
13. Wurtzel E. T. Genomics, genetics, and biochemistry of maize carotenoid biosynthesis / E. T. Wurtzel // Recent Advances in Phytochemistry. – 2004. – Vol. 38. – P. 85–110.
14. Influence of the moisture at harvest and drying process of grains on the level of carotenoids in maize (*Zea mays*) / [W. S. Caroso, A. Borem, D. Karam et al] // Food Science and Technology. – 2015. – Vol. 35, N 3. – P. 481–486.
15. Carotenoid accumulation during grain development in wheat / [A. Ramachandran, C. J. Poznaniak, J. M. Clark, A. K. Singh] // J. of Cereal Science. – 2010. – Vol. 52, N 1. – P. 30–38.
16. Атраментова Л. О. Статистичні методи в біології / Л. О. Атраментова, О. М. Утэвська; ХНУ ім. В. Н. Каразіна – Х.: ХНУ, 2007. – 288 с.
17. Quackenbush F. W. Corn carotenoids: effects of temperature and moisture on losses during storage / F. W. Quackenbush // Cereal. Chem. – 1963. – Vol. 40. – P. 266–269.
18. Impact of postharvest handling on carotenoid concentration and composition in high-carotenoid maize (*Zea mays* L.) kernels / [A. J. Burt, C. M. Grainger, J. C. Young et al] // J. Agric. Food Chem. – 2010. – Vol. 58. – P. 8286–8292.
19. Analysis of carotenoids in corn grain / [F. W. Quackenbush, J. G. Firch, W. J. Roburn et al] // J. Agric. Food Chem. – 1961. – Vol. 9. – P. 132–135.
20. Weber E. J. Carotenoids and tocots of corn grain determined by HPLC / E. J. Weber // J. Am. Oil. Soc. – 1987. – Vol. 64. – P. 1129–1134.