

ВМІСТ АНТОЦІАНІВ В ЗЕРНІ КУКУРУДЗИ РІЗНОГО КОЛЬОРУ

*А. О. Псьолова**, *К. В. Деркач*;

Є. І. Бєліков, кандидат сільськогосподарських наук;

Т. М. Сатарова, доктор біологічних наук

Державна установа Інститут зернових культур НААН, вул. Володимира Вернадського, 14,
м. Дніпро, Україна, 49027, *e-mail: annapselova@gmail.com

Проведено дослідження зі з'ясування вмісту антоціанів та їхніх глікозидів в зерні кукурудзи залежно від його кольору: жовтого – лінія ІКС3202; багряного і темно-синього – популяції К1 та С1 відповідно. Виявлено залежність між кольором зерна досліджуваних генотипів кукурудзи і кількісним вмістом в ньому антоціанів.

Ключові слова: *Zea mays L.*, антоціани, лінія, популяція, вміст, колір.

Антоціани належать до групи вітамінів Р і відіграють важливу роль в підтриманні життєдіяльності організму людини і тварин на належному рівні [1]. У медицині антоціани використовують як судинорозширювальний та протипухлинний засіб, а також їх вважають протизапальними речовинами [2]. Останнім часом інтерес до антоціанів як пігментів помітно посилюється через використання їх як натуральних харчових барвників. Зокрема встановлено, що фіолетове зерно кукурудзи містить пігменти з високою антиоксидантною активністю, які можна використовувати як натуральний барвник у харчовій промисловості [2]. Розрізняють декілька видів антоціанів – ціанідин, пеларгонідин, дельфінідин, мальвідин, пеонідин та їх 3-глікозиди, колір яких визначається значенням рН середовища. Вони розчинні у воді та підкисленому спирті [3].

У зв'язку з природною користю та незбалансованістю харчування людей вирощування сільськогосподарських культур з високим вмістом антоціанів є досить актуальним. Однією з них є кукурудза, яка за обсягами використання для продовольчих, кормових і технічних цілей посідає провідне місце у світі, тому особливо заслуговує на увагу пошук шляхів створення її генотипів з підвищеним вмістом антоціанів.

На даний час ідентифіковано лінії кукурудзи з достатньо високим вмістом антоціанів. Так, відома тайська лінія KND_{10-4P}, яка характеризується загальним вмістом антоціанів на рівні 1556,4 мг/кг сухої маси зерна, а ціанідин-3-глікозид та пеларгонідин-3-глікозид містить відповідно у кількості 315,3 мг/кг і 106,7 мг/кг. Відома інша тайська лінія BW з вкрай низьким загальним вмістом антоціанів – 2,6 мг/кг та вмістом ціанідин-3-глікозиду на рівні 0,5 мг/кг, пеларгонідин-3-глікозиду – 0,5 мг/кг [4].

Мета дослідження – визначення вмісту антоціанів та їхніх глікозидів у зерні генотипів кукурудзи, які різняться за забарвленням зерна. В Україні роботи у напрямку створення генотипів кукурудзи з контрольованим вмістом антоціанів у зерні тільки набувають свого розвитку

Матеріали та методи досліджень. Матеріалом дослідження були генотипи кукурудзи (*Zea mays L.*): лінія ІКС3202 – зерно жовте (рис. 1, 4), популяція К1 – багряне (рис. 2, 5) та популяція С1 – темно-синє (рис. 3, 6). Дослідження були проведені в 2016 р. в лабораторії біотехнології, фізіології та методів селекції на базі Інституту зернових культур.

Вміст антоціанів визначали модифікованим методом диференційної спектрофотометрії [5–6]. Встановлювали загальний вміст антоціанів в зерні, вміст 5 фракцій неглікозилізо-

ваних антоціанів (ціанідину, пеларгонідину, дельфінідину, мальвідину та пеонідину) і 5 фракцій їхніх глюкозильованих форм (ціанідин-3-глюкозиду, пеларгонідин-3-глюкозиду, дельфінідин-3-глюкозиду, мальвідин-3-глюкозиду та пеонідин-3-глюкозиду). В таблиці 1 наведено колір досліджуваних фракцій і довжину хвилі світлового потоку, яка при опроміненні у спектрофотометрі забезпечує їх візуалізацію.



Рис. 1. Зерно лінії ІКС3202.



Рис. 2. Зерно популяції К1.



Рис. 3. Зерно популяції С1.

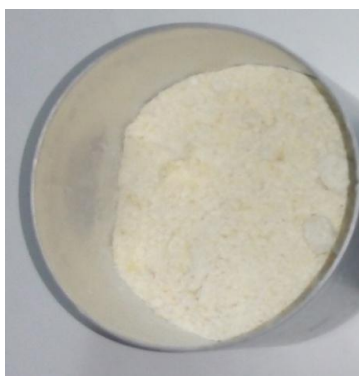


Рис. 4. Розмелене зерно лінії ІКС3202.

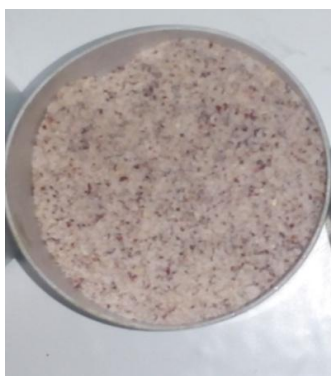


Рис. 5. Розмелене зерно популяції К1.



Рис. 6. Розмелене зерно популяції С1.

1. Характеристика фракцій антоціанів за [Luis E. Rodriguez-Saona and Ronald E. Wrolstad]

Речовина	Колір	Довжина хвилі для візуалізації, нм
Ціанідин	помаранчево-червоний	510,5
Пеларгонідин	помаранчевий	504,5
Дельфінідин	синьо-червоний	522,5
Мальвідин	синьо-червоний	520
Пеонідин	помаранчево-червоний	511
Ціанідин-3-глюкозид	помаранчево-червоний	512
Пеларгонідин-3-глюкозид	помаранчевий	516
Дельфінідин-3-глюкозид	синьо-червоний	520
Мальвідин-3-глюкозид	синьо-червоний	535
Пеонідин-3-глюкозид	помаранчево-червоний	512

Вміст антоціанів наведено у мг на 1 кг зерна при вологості 14 %. Дослідження проводили у двох біологічних і трьох аналітичних повтореннях. Статистичний аналіз даних проведений за Л. О. Антраментовою [7]. В таблицях результати показані у вигляді $x \pm mt_{0,05}$, де x – середнє арифметичне значення показника, m – похибка середнього арифметичного значення, $t_{0,05}$ – критерій Стюдента для рівня значущості 0,05.

Результати досліджень вмісту антоціанів в зерні кукурудзи лінії ІКС3202 і популяцій К1 та С1 наведені в таблиці 2.

2. Вміст антоціанів у зерні генотипів кукурудзи, мг/кг зерна

Речовина	Генотип (колір зерна)		
	ІКС3202 (жовтий)	К1 (багряний)	С1 (темно-синій)
Неглюкозильовані форми антоціанів			
Ціанідин	111,3 ± 16,5	205,5 ± 66,4	420,5 ± 33,7
Пеларгонідин	150,6 ± 19,9	299,4 ± 74,8	620,0 ± 27,2
Дельфінідин	78,9 ± 9,6	133,4 ± 32,4	298,8 ± 37,4
Мальвідин	96,5 ± 16,6	146,2 ± 47,2	319,6 ± 52,7
Пеонідин	77,3 ± 10,4	145,5 ± 40,4	314,8 ± 32,3
<i>Разом</i>	<i>514,5 ± 26,4</i>	<i>930,0 ± 60,8</i>	<i>1973,7 ± 118,1</i>
Глюкозильовані форми антоціанів			
Ціанідин-3-глюкозид	228,8 ± 30,0	299,8 ± 108,0	526,6 ± 145,9
Пеларгонідин-3-глюкозид	121,1 ± 16,8	227,6 ± 69,4	514,8 ± 47,6
Дельфінідин-3-глюкозид	94,6 ± 16,3	179,3 ± 79,4	548,0 ± 93,7
Мальвідин-3-глюкозид	111,8 ± 16,3	495,3 ± 166,2	1176,0 ± 233,3
Пеонідин-3-глюкозид	314,5 ± 41,3	559,0 ± 197,2	1275,3 ± 277,2
<i>Разом</i>	<i>870,8 ± 82,8</i>	<i>1761,0 ± 146,3</i>	<i>4040,7 ± 335,6</i>
Всього антоціанів	1385,3 ± 47,1	2691,0 ± 92,3	6014,4 ± 215,3

Як видно з таблиці 2, загальний вміст антоціанів в зерні досліджуваних генотипів кукурудзи варіює в межах 1385,3–6014,4 мг/кг, тобто становить 0,13853–0,60144 % маси зерна. Загальний вміст антоціанів в жовтому зерні лінії ІКС3202 становив 1385,3 мг/кг; у багряному – популяції К1 цей показник збільшувався до 2691,0 мг/кг, тобто у 1,9 раза, а в темно-синьому зерні популяції С1 досягав 6014,4 мг/кг, що у 4,3 раза більше, ніж у ІКС3202 і в 2,2 раза порівняно з К1.

Неглюкозильовані форми антоціанів становили близько третини їх загальної кількості в зерні досліджуваних зразків. Загальний вміст неглюкозильованих антоціанів, а також вміст їхніх окремих форм, за виключенням мальвідину в ІКС3202 і К1, достовірно різнився у трьох зразків, збільшуючись з наростанням кольору зерна. Найбільший вміст неглюкозильованих форм антоціанів був характерний для темно-синього зерна популяції С1 (1973,7 мг/кг зерна). У С1 спостерігалось достовірне збільшення вмісту неглюкозидних форм антоціанів відносно ІКС3202 – за фракціями в 3,3–4,1 раза, у середньому в 3,8 раза, а відносно К1 – за фракціями в 2,0–2,2 раза, у середньому в 2,1 раза. У К1 відносно ІКС3202 вміст різних фракцій неглюкозидних антоціанів збільшувався у 1,5–2,0 рази, у середньому в 1,8 раза.

Глюкозильовані антоціани у досліджуваних генотипів становили близько $\frac{2}{3}$ їх загального вмісту в зерні. Зокрема, вміст глюкозильованих форм антоціанів в зерні переважав вміст неглюкозильованих форм: ІКС3202 – в 2,7, К1 – в 2,9, С – в 3,1 раза. Загальний вміст глюкозильованих антоціанів, а також вміст їхніх окремих форм, за виключенням ціанідин-3-глюкозиду і дельфінідин-3-глюкозиду у ІКС3202 та К1, достовірно різнився в усіх трьох форм і збільшувався в напрямку від жовтого зерна до багряного і темно-синього. Найбільший вміст глюкозильованих форм антоціанів також був характерний темно-синьому зерну популяції С1 (4040,7 мг/кг). У С1 спостерігалось достовірне збільшення вмісту глюкозидних форм антоціанів відносно ІКС3202 за фракціями у 2,3–10,5 раза (в середньому в 4,6 раза), а К1 – у 2,8–3,1 раза (в середньому у 2,3 раза). У К1 відносно ІКС3202 вміст різних фракцій глюкозидних антоціанів збільшувався у 1,3–4,3 раза (в середньому у 2,0 рази).

Відсоткове співвідношення неглюкозильованих та глюкозильованих антоціанів та їхніх фракцій у зерні досліджуваних генотипів кукурудзи з різним кольором зерна висвітлено в таблиці 3.

Як видно з таблиці 3, відсоткове співвідношення неглюкозильованих форм антоціанів у

досліджуваних генотипів кукурудзи коливалося у межах 32,8–37,1 % від їхньої загальної кількості та зменшувалося при посиленні кольору зерна в напрямку від жовтого – лінія ІКС3202 (37,1 %) до багряного – популяція К1 (34,5 %) та темно-синього – популяція С1 (32,8 %). Відповідно глюкозильовані форми становили залежно від генотипу 62,9–67,2 % загального вмісту антоціанів, їхня частка дещо збільшувалася в напрямку від жовтого зерна (62,9 %) до багряного (65,5 %) і темно-синього (67,2 %).

3. Співвідношення фракцій антоціанів у генотипів кукурудзи з різним кольором зерна, % від загального вмісту антоціанів

Речовина	Генотипи		
	ІКС3202 (жовте)	К1 (багряне)	С1 (темно-синє)
Неглюкозильовані форми антоціанів			
Ціанідин	8,00	7,6	7,0
Пеларгонідин	10,9	11,1	10,3
Дельфінідин	5,7	5,0	5,0
Мальвідин	7,0	5,4	5,3
Пеонідин	5,6	5,4	5,2
<i>Разом</i>	<i>37,1</i>	<i>34,5</i>	<i>32,8</i>
Глюкозильовані форми антоціанів			
Ціанідин-3-глюкозид	16,5	11,1	8,7
Пеларгонідин-3-глюкозид	8,7	8,5	8,6
Дельфінідин-3-глюкозид	6,8	6,7	9,1
Мальвідин-3-глюкозид	8,1	18,4	19,6
Пеонідин-3-глюкозид	22,7	20,8	21,2
<i>Разом</i>	<i>62,9</i>	<i>65,5</i>	<i>67,2</i>
Всього	100	100	100

Аналіз співвідношення окремих фракцій показує, що зі зміною кольору зерна (від жовтого до багряного і темно-синього) простежується зменшення відсотку дельфінідину та мальвідину на фоні збільшення частки їхніх глюкозильованих форм, особливо мальвідин-3-глюкозиду (більш ніж у 2 рази). Одночасно при посиленні кольору зерна відбувається зменшення відсотку ціанідину і пеонідину як в неглюкозильованій, так і в глюкозильованій формах, а частка пеларгонідину та його 3-глюкозиду залишається без змін.

За літературними даними, загальний вміст антоціанів в зерні кукурудзи значно коливається: від 2,50 до 696,07 мг/кг в зерні сербської кукурудзи [8], на рівні 2,6 мг/кг у тайської лінії ВW і 1556,4 мг/кг у тайської лінії КND_{10-4P} [4]. У проаналізованих нами зразках, вирощуваних в Україні, загальний вміст антоціанів становив 1385,3–6014,4 мг/кг зерна, що на рівні окремих проаналізованих закордонних зразків або перевищує їх.

За окремими фракціями відомо, що ціанідин-3-глюкозид та пеларгонідин-3-глюкозид у тайської лінії КND_{10-4P} становлять 315,3 та 106,7 мг/кг, а в ВW – по 0,5 мг/кг [4]. В одній із наукових робіт [9] відзначено, що вміст ціанідин-3-глюкозиду у зерні болівійської кукурудзи становив від 20 до 720 мг/кг. У зразках, які ми аналізували, вміст ціанідин-3-глюкозиду коливався у межах 228,8–526,6 мг/кг, а пеларгонідин-3-глюкозиду – 121,1–514,8 мг/кг. Проведене порівняння свідчить про значне варіювання вмісту даних речовин у зразках кукурудзи різного генетичного походження; також можна припустити, що мав місце і вплив умов вирощування кукурудзи на накопичення як загальної кількості антоціанів, так і їхніх окремих фракцій.

Висновки

Таким чином, аналіз вмісту антоціанів в зерні кукурудзи показав, що зміна кольору зерна в напрямку від жовтого до багряного та синього відбувається насамперед за рахунок збільшення загального вмісту антоціанів. Посилення кольору зерна також супроводжується інтенсифікацією ковалентної модифікації окремих видів антоціанів шляхом глюкозильовання, в результаті чого збільшується загальна частка глюкозильованих форм в багряному

зерні та, особливо, темно-синьому порівняно з жовтим. Посилення кольору зерна та збільшення загального вмісту антоціанів супроводжується і перерозподілом їхніх окремих фракцій. Перш за все, в темно-синьому зерні порівняно з жовтим різко (більш ніж у 2 рази) підвищується вміст мальвідин-3-глюкозиду. Певні зміни відбуваються і в співвідношенні інших фракцій, а саме – зменшується відсоток неглюкозильованих дельфінідину, мальвідину, а також ціанідину та пеонідину як в неглюкозильованій, так і в глюкозильованій формах, збільшується частка дельфінідин-3-глюкозиду, при цьому відсоток пеларгонідину і його 3-глюкозиду залишається без змін.

Використана література

1. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries / Wang H. et al. *Journal Natural Products*. 1999. 62(2) P. 294–296.
2. Yang Z. D., Zhai W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2010. № 11, P. 169–176.
3. Mazza G., Miniati E. Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Boca Raton: CRC Press Inc; 1993. 362 p.
4. Harakotr B., Suriharn K. Lertrat, Scott M. P. Genetic analysis of anthocyanin content in purple waxy corn (*zea mays*l. Var. Certain kulesh) kernel and cob. *Journal of breeding and genetics*. 2016. № 48 (2). 230–239.
5. Rodriguez-Saona Luis E., Wrolstad Ronald E. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. Current protocols in food analytical chemistry-2001. P. 672–682.
6. Giusti M. Monica, Wrolstad Ronald E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry-2001. P. 683–695.
7. Атраментова Л.О., Утевская О.М. Статистичні методи в біології; ХНУ ім. В. Н. Каразіна. Харків:ХНУ, 2007. 288 с.
8. Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels / Žilić S. et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2012. Vol. 60. P. 1224–1231.
9. Exploiting phenylpropanoid derivatives to enhance the nutraceutical values of cereals and legumes / Sangam L. Dwivedi et al. *Frontiers in Plant Science*. 2016. № 7, 1–27 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4891577>

References

1. Wang, H., Nair, M.G., Strasburg, G. M., Chang, Y. C., Booren, A. M., Gray, J. I., De Witt, D. L. (1999). Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal Natural Products*. 62 (2). 294–296.
2. Yang, Z. D., Zhai, W. (2010). Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). *Innovative food Science and Emerging Technologies*, 11, 169–176.
3. Mazza, G., Miniati, E. (1993). Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Boca Raton: CRC Press Inc. 362.
4. Harakotr, B., Suriharn, K. Lertrat, Scott, M. P. (2016). Genetic analysis of anthocyanin content in purple waxy corn (*zea mays*l. Var. Certain kulesh) kernel and cob. *Journal of breeding and genetics*. 48 (2), 230–239.
5. Rodriguez-Saona Luis, E., Wrolstad Ronald, E. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. Current protocols in food analytical chemistry-2001. 672–682.
6. Giusti M., Monica., Wrolstad Ronald, E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry-2001. 683–695.
7. Атраментова, Л. О., Утевская, О. М. (2007). Статистичні методи в біології [Statistical methods in biology]. Harkiv: HNU, 288. [in Ukrainian]
8. Žilić, S., Serpen, A., Akıllıoğlu, G., Gökmen, V., Vantsetovits, J. (2012). Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60, 1224–1231.
9. Sangam L. Dwivedi, Hari D. Upadhyaya, Min-Chung Pasquale De Vita ... Rodomiro Ortiz. (2016). Dwivedi. Exploiting phenylpropanoid derivatives to enhance the nutraceutical values of cereals and legumes. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1–27.

УДК 581.192:633.15

Пєлова А. А. *, Деркач Е. В., Беликов Е. И., Сатарова Т. Н. Содержание антоцианов в зерне кукурузы разного цвета. Зерновые культуры. 2017. Т 1. № 1. С. 242–247.

Государственное учреждение Институт зерновых культур НААН, ул. Владимира Вернадского, д. 14, г. Днепр, Украина, 49027, *e-mail: annapselova@gmail.com

Ключевые слова: *Zea mays* L., антоцианы, линия, популяция, содержание, цвет.

Исследовано содержания антоцианов и их гликозидов в зерне кукурузы линии ИКС3202 – жёлтое и двух популяций: К1 – багровое и С1 – темно-синее. Отмечена зависимость между окраской зерна кукурузы в исследованных генотипах и количественным содержанием в нем антоцианов.

Key words: *Zea mays L., anthocyanins, inbred line, population, contents, colour.*

In Ukraine, the work towards the development of maize genotypes with controlled contents of anthocyanins in grain is only beginning to develop. The purpose of our study was to determine the contents of anthocyanins and their glucosides in grain of maize genotypes, which differed in colour of grain. The research material was represented by following maize (*Zea mays L.*) genotypes: yellow grain inbred line IKC3202, purple grain population K1, and the population C1 with dark blue grain. The contents of anthocyanins were determined by the modified method of differential spectrophotometry. The total contents of anthocyanins in grain, the contents of 5 fractions of nonglucosylated anthocyanins (cyanidin, pelargonidin, delphinidin, malvidin and peonidin) and of 5 fractions of their glucosylated forms (cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside, delphinidin-3-glucoside, malvidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside) were determined.

The total contents of anthocyanins in the investigated genotypes varied within 1385,3–6014,4 mg/kg of grain, that was 0,13853–0,60144 % of grain weight. The total contents of anthocyanins in the yellow grain of the IKC3202 inbred line was 1385,3 mg/kg. With the intensification of colour up to purple in the grain of the population K1, this value increased to 2691,0 mg/kg, that was 1,9 times higher. In the dark blue grain of C1-population it was 6014,4 mg / kg, which was 4,3 times higher than in IKC3202 and 2,2 times higher than in K1.

Nonglucosylated forms of anthocyanins accounted for about one third of their total amount in the grain of investigated samples. The total contents of nonglucosylated anthocyanins, as well as the contents of their individual forms, with the exception of malvidin in IKC3202 and K1, significantly differed between three genotypes, growing simultaneously with the intensification in the specific grain colour. The highest contents of nonglucosylated forms of anthocyanins was for dark blue grain of the population C1 (1973,7 mg/kg).

Glucosylated anthocyanins in the studied genotypes comprised about two thirds of their total grain contents. In particular, the contents of glucosylated forms of anthocyanins in grain exceeded the contents of nonglucosylated ones in IKC3202 by 2,7 times, in K1 by 2,9 times, and in C1 by 3,1 times. The total contents of glucosylated anthocyanins, as well as the contents of their individual forms, with the exception of cyanidin-3-glucoside and delphinidin-3-glucoside in IKC3202 and K1, also significantly differed between three genotypes and increased from yellow grain to purple and dark blue ones.

The proportion of nonglucosylated forms of anthocyanins in the investigated genotypes was within 32,8–37,1 % of their total amount. It decreased with the intensification of grain colour from yellow in IKC3202 (37,1 %) to purple in K1 (34,5 %) and dark blue in C1 (32,8 %). Accordingly, glucosylated forms comprised 62,9–67,2 % of the total contents of anthocyanins, depending on genotype. Their part somewhat increased with the transition from yellow grain (62,9 %) to purple (65,5 %) and dark blue (67,2 %).

Thus, the analysis of the contents of anthocyanins in grain of maize samples of different colours showed that the change from yellow to purple and blue grain occurred primarily due to an increase of total contents of anthocyanins. Colour enhancement is also accompanied with the intensification of the covalent modification of certain species of anthocyanins via glucosylation, resulting in the increase of total proportion of glucosylated forms in purple grain and, in particular, in dark blue grain compared to yellow one. The intensification of colour and growth of the total contents of anthocyanins were accompanied with the redistribution of their individual fractions. First, in the grain of the dark blue colour, in contrast to the yellow one, the contents of malvidin-3-glucoside increased sharply, more than twice. Certain changes touched upon the ratio of other fractions: the proportion of non-glucosylated delphinidin and malvidin, decreased as well as cyanidin and peonidin in both non-glucosylated and glucosylated forms. The fraction of delphinidin-3-glucoside increased, while the proportions of pelargonidin and its 3-glucoside remained unchanged.