Karotenoidy kwiatów nasturcji (*Tropaeolum maius*)

Carotenoids in Indian cress flowers (*Tropaeolum maius*)

A. SYKUT

WSTĘP

Badania karotenoidów, występujących w kwiatach, prowadzone są już od przeszło 30 lat. Karrer i współpracownicy przebadali kwiaty wielu gatunków roślin. Z każdego gatunku wykrystalizowali oni po kilka karotenoidów oraz określili ich budowę. Były to karotenoidy dominujące w danym materiale roślinnym. W miarę udoskonalania metod badawczych wykrywano w przyrodzie coraz to nowe związki (np. bezbarwne polieny i cis-izomery). Wobec tego nieraz okazało się wskazane powtórne przebadanie materiału już analizowanego. I tak np. w 1954 r. Goodwin (1954) analizował kwiaty *Calendula officinalis*, analizowane już przez Zechmeistera i Cholnokiego (1932) i stwierdził tam obecność nie wykrytych poprzednio karotenoidów.

W większości prac dotychczas ogłoszonych badano całe kwiaty lub tylko płatki. Stosunkowo niewiele jest prac o karotenoidach pylników i pyłku, a zupełnie brak prac o karotenoidach działek kielichów, nitek pręcików i słupka. W 1962 r. ukazała się praca Jungalwala i Cama (1962), w której badano oddzielnie skład karotenoidów płatków, kielichów, pylników i nitek pręcików.

Karotenoidy płatków są zbadane najdokładniej. Jak wskazują badania są to przeważnie ksantofile i ich epoksydowe pochodne (często specyficzne dla danego gatunku kwiatów). Natomiast rzadziej spotykane są kwiaty, których płatki zawierają niemalże same karoteny (np. badane przez Bootha (1963) odmiany *Narcissus*). Pylniki i pyłek, przebadanych przez Karrera kilkunastu gatunków roślin, zawierały głównie ester luteiny i cis-anteraksantynę.

Ze względu na różnorodną rolę, jaką odgrywają poszczególne części kwiatów w rozmnażaniu roślin, wydaje się, że porównawcze studia nad zawartością karotenoidów w różnych częściach kwiatów są bardzo wskazane. Umożliwi to dalsze badanie zmian w składzie karotenoidów w okresie wzrostu kwiatów, co zapewne przyczyni się do poznania karotenogenezy oraz roli karotenoidów w kwiatach.

W tej pracy przeprowadzono badania karotenoidów kwiatów nasturcji. W literaturze brak jest dokładnych danych o karotenoidach tych kwiatów. Kuhn i Winterstein (1930) wydzielili z kwiatów nasturcji ester luteiny — helenjum. O obecności karotenoidów w pyłku nasturcji wspomina Lubliner-Mianowska (1955).

1. MATERIAŁY

Badania prowadzone były przez trzy okresy wegetacyjne (1960–1962). Materiałem doświadczalnym były intensywnie pomarańczowe kwiaty nasturcji (*Tro-paeolum maius*). Wysiewano ją na polstkach doświadczalnych WSR w Felinie w końcu kwietnia lub pierwszych dniach maja. Rośliny zaczynały kwitnąć w końcu czerwca. Koniec wegetacji wypadał w ostatnich dniach października. Kwiaty do analiz zrywano w dzień pogodny od godziny 9 do 10. Zerwany materiał (100 lub 50 kwiatów) przenoszono do pracowni i ważono, a następnie kwiaty dzielono na płatki korony, działki kielicha, pylniki wraz z pyłkiem i nitki pręcików wraz ze słupkiem. We wszystkich tych częściach oznaczano suchą masę, sumę karotenoidów oraz po rozdziale chromatograficznym identyfikowano i oznaczano poszczególne karotenoidy. Odważone próbki, których nie udało się natychmiast zanalizować przechowywano w eterze naftowym w temperaturze -15°C .

2. METODY

1. Sucha masa. 5 g materiału roślinnego suszono do stałej wagi w temperaturze 103°C około 6 godzin.

2. Całkowita zawartość karotenoidów. 2 g materiału roślinnego rozcierano z piaskiem, następnie rozarty materiał ekstrahowano 8–10 małymi porcjami mieszaniny acetonu i eteru naftowego ($40-60^{\circ}$) w stosunku 1:1 v/v. Aceton oraz rozpuszczalne w wodzie antocyjany wymywano wodą w specjalnym aparacie, według metody przyjętej przez analityków angielskich (Peach, Tracey 1955). Następnie roztwór ten odparowywano do sucha w ciemnym eksykatorze próżniowym, rozpuszczano w 10 ml etanolu i zmydlano według metody Goodwina (Peach, Tracey 1955). Do tego roztworu dodawano więc 1 ml 60% KOH i pozostawiano w ciemni w temperaturze pokojowej na 24 godziny. Zmydloną mieszaninę rozcieńczano trzykrotnie wodą i ekstrahowano 3–4-krotnie eterem etylowym. Połączone ekstrakty wymywano letnią wodą, suszono nad Na_2SO_4 bezw., odparowywano do sucha i rozpuszczano w eterze naftowym. Całkowitą zawartość karotenoidów oznaczano przez pomiar ekstynkcji na fotometrze Pulfricha z przystawką „Elpho 2” stosując filtr S 47 (dł. fali 465 m μ). Do obliczeń używano współczynnika $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2340$ oznaczonego przez nas w poprzedniej pracy (Wierzchowski i in. 1957) dla danego aparatu i roztworu β -karotenu (E. Merck). Zawartość karotenoidów wyrażono w mikrogramach na gram świeżej i suchej masy.

3. Chromatograficzny rozdział karotenoidów. Do rozdzielania używano adsorbentów firmy angielskiej B.D.H.: MgCO_3 , MgO , ZnCO_3 , CaCO_3 , oraz dwóch gatunków Ca(OH)_2 otrzymanych według własnej metody (I Ca(OH)_2 silnie adsorbujący zawierał jeszcze około 4–5% CaO , otrzymano go przez dodanie do wapna palonego stechiometrycznej ilości H_2O dest.; II Ca(OH)_2 słabo adsorbujący zawierał około 30% CaCO_3 , otrzymano go przez dodanie 70% stechiometrycznej ilości H_2O i pozostawienie na powietrzu 3–4 dni). Ekstrakt z 1–2 g materiału doświadczalnego w eterze naftowym zateżano do 2 ml. Następnie wprowadzano ekstrakt

na kolumnę z MgCO_3 . Kolumnę rozwijano eterem naftowym, wymywano acetonem, w eterze naftowym. Eluaty poszczególnych warstw rechromatografowano kilkakrotnie na różnych adsorbentach (szczegółowy opis poniżej). Oczyszczone eluaty oznaczano ilościowo metodą opisaną przy ogólnej zawartości karotenoidów. Przy oznaczaniu ekstynkcji karotenów stosowano filtr S 45 (dł. fali 450 $\text{m}\mu$), a ksantofili S 47 (dł. fali 465 $\text{m}\mu$). Do wszystkich obliczeń stosowano współczynnik dla β -karotenu. Stężenie fitofluenów oznaczano na spektrofotometrze Hilgera przy długości fali 348 $\text{m}\mu$, według Zechmeistera i Karmakara (1953).

4. Identyfikacja. Otrzymane przez kilkakrotną rechromatografię czyste substancje zidentyfikowano stosując następujące testy:

a) Krzywe absorpcji wykonane na spektrofotometrze Hilgera (Uvispek H 700/308 lub Beckmanna model D.U.). Dla każdego pasma wykonano pomiary widm w 3 rozpuszczalnikach (specjalny do spektroskopii heksan firmy B.D.H. oraz benzen i dwusiarczek węgla firmy E. Merck).

b) Zachowanie się barwnika, rozpuszczonego w eterze naft., podczas wytrząsania z 90% metanolem przed zmydleniem i po zmydleniu. Roztwory barwników zmydlano jak podano powyżej.

c) Zachowanie się barwnika rozpuszczonego w heksanie podczas wytrząsania z 95% lub z 85% metanolem. Zgodnie z metodą Petracka i Zechmeistera (1956) próbkę rozpuszczano w 10 ml i oznaczano w tym roztworze ekstynkcję A_1 . Potem wlewano ten roztwór do cylinderka z korkiem, dodawano 5 ml 95% metanolu i wytrząsano łagodnie. Następnie mierzono ekstynkcję tego roztworu A_2 . Obliczono z wzoru $A_1/A_2 \times 100$.

d) Ustalenie konfiguracji cis-trans. Izomeryzację przeprowadzono przez dodanie 0,5 ml 0,001% roztworu jodu w heksanie do 10 ml roztworu karotenoidów w heksanie. Próbkę oświetlano żarówką 75 wat przez 15 lub 30 minut. Pomiary widm przed izomeryzacją i po izomeryzacji wykazywały przesunięcia głównego maksimum w kierunku krótszych fal, w wypadku izomerów trans, a w kierunku dłuższych fal w wypadku izomerów cis.

e) Reakcja ze stężonym HCl. Zmydlony barwnik rozpuszczano w eterze etylowym i dodawano kroplami stęż. HCl. W razie obecności grup epoksydowych warstwa kwasu solonego barwiła się na niebiesko.

f) Mieszane chromatogramy,

g) Zabarwienie warstw oraz siła adsorpcji na kilku adsorbentach.

h) Krystalizacja. Krystalizacji poddano tylko barwniki występujące w największym stężeniu. Luteinę i zeaksantynę krystalizowano z eteru naftowego i metanolu 1:1, a γ -karoten z metanolu i benzenu 1:1.

3. WYNIKI

1. Płatki. Rycina 1 przedstawia schemat chromatogramu płatków kwiatu nasturcji. Na kolumnę (1) napełnioną MgCO_3 wprowadzono ekstrakt z 2 g płatków. Kolumnę rozwinięto eterem naftowym i otrzymano następujące warstwy: A —

Tabela 1 — Table 1

Chromatogram płatków kwiatu nasturcji (*Tropaeolum maius*). Adsorbent $MgCO_3$. Naważka 2 g. Rozwijano acetonem w eterze naftowym

Chromatogram of petals of Indian cress flowers (*Tropaeolum maius*). Adsorbent $MgCO_3$. Sample weight 2 g. Developed with acetone in light petroleum

Pasmo Zone	Opis Description	Widmo absorpcyjne Absorption spectrum		Eluent: aceton w eterze naftowym Acetone in light petr. % v/v	Identyfikacja Identification
		heksanie hexane m μ	benzenie benzene m μ		
A ₁ ⁱ	Bezb. fluoryzująca niebieskozielono				fytofluon
A ₁ ^{''}	Fluoresces blue-green	332, 348, 367		0	phytofluene
A ₁ ^{'''}	Żółta		e		alfa-karoten
A ₁	Yellow	422, 445, 476	422, 446, 474	0	alpha-carotene
A ₂	Pomarańczowoczerwona		e		beta-karoten
A ₂	Orange-red	426, 451, 482	426, 450, 478	0	beta-carotene
B ₁	Brudnopomarańczowa				neo-beta-karoten B*
B ₁	Dirty-orange	445, 475	456, 486	0	neo-beta-carotene B
B ₂	Czerwonoróżowa				neo-beta-karoten U
B ₂	Pink-red	451, 480	462, 492	0	neo-beta-carotene U
C ₁	Brudnopomarańczowe		e		hydroksy-alfa-karoten*
C ₁	Dirty-orange	423, 445, 475	424, 445, 474	0,5	hydroxy-alpha-carotene
C ₂	Różowoczerwona				kryptoksantyna
C ₂	Pink-red	425, 451, 483	462, 492	0,5	kryptoxanthin
C ₃	Cytrynowa				alfa-karoteno-5,6-epoksyd
C ₃	Lemon yellow	418, 443, 471	427, 452, 482	0,5	alpha-carotene-5,6-epoxide
C ₄	Pomarańczowa				luteina
C ₄	Orange	422, 446, 476	431, 455, 486	0,5	lutein
C ₅	Żółta				luteino-5,6-epoksyd
C ₅	Yellow	420, 442, 470	425, 453, 482	0,5	lutein-5,6-epoxide
C ₆	Pomarańczowoczerwona				zeaksantyna
C ₆	Orange-red	423, 451, 480	445, 461, 490	0,5	zeaxanthin
D ₁	Żółta		s		taraksantyna*
D ₁	Yellow	442, 472	441, 470, 501	0,6	taraxanthin
E ₁	Różowoczerwona				nieznany Y
E ₁	Pink-red	427, 450	433, 460	0,7	unknown Y
E ₂	Żółta				flawoksantyna
E ₂	Yellow	422, 450	433, 460	1,0	flavoxanthin
E ₃	Cytrynowa				mutatoksantyna*
E ₃	Lemon yellow	427, 455	436, 465	1,5	mutatoxanthin
E ₄	Cytrynowa				auroksantyna
E ₄	Lemon yellow	371, 402, 426	387, 410, 436	1,5	auroxanthin
F ₁	Żółta				anteraksantyna
F ₁	Yellow	422, 446, 478	432, 457, 486	2,0	antheraxanthin
G ₁ ⁱ	Żółtopomarańczowa				trollichrom
G ₃	Yellow-orange	407, 422, 450	408, 434, 461	4,0	trollichrome
G ₂ ⁱ	Pomarańczowe				trolliksantyna
G ₄	Orange	425, 446, 471	433, 456, 484	5,0	trollixanthin

e — W eterze naftowym in light petroleum

s — W CS_2 in CS_2

* — Prawdopodobna identyfikacja probable identification

Ryc. 1. Chromatogram karotenoidów płatków nasturcji (*Tropaeolum maius*)

Adsorbent $MgCO_3$. Naważka 2 g. Rozwijano acetonem w eterze-naftowym. Zabarwienie warstw: 1 – bezbarwna fluoryzująca w UW, 2 – pomarańczowa, 3 – żółta, 4 – różowoczerwona, 5 – cytrynowa, 6 – żółtopomarańczowa, 7 – pomarańczowoczerwona, 8 – żółtozielona, 9 – brudnopomarańczowa

Chromatogram of petals of Indian cress flowers (*Tropaeolum maius*)

Adsorbent $MgCO_3$. Sample weight 2g. Developed with acetone in light petroleum. The colour of the zones: 1 – colourless fluoresces in UV, 2 – orange, 3 – yellow, 4 – pink-red, 5 – lemon-yellow, 6 – yellow-orange, 7 – orange-red, 8 – yellow-green, 9 – dirty-orange.

żółtą fluoryzującą (szer. 5 mm); B — pomarańczowoczerwoną niejednorodną (5 mm); C — pomarańczową (26 mm), D — żółtą (3 mm), E — cytrynowopomarańczową niejednorodną (11 mm); F — żółtą (4 mm); G — żółtopomarańczową niejednorodną (9 mm); H — żółtozieloną (3 mm). Eterem naftowym wymyto z kolumny kolejne warstwy A i B. Warstwę C najszerszą i najintensywniejszą wymyto w 0,5% acetonu w eterze naftowym. Górę kolumny (1) po wymyciu warstw A, B i C rozwijano 0,6–8% acetonem w eterze naftowym. Schemat tego podaje kolumna (1). Otrzymano następujące pasma: D₁ — żółte; E₁ — różowoczerwone; E₂ — cytrynowe; E₃ i E₄ — cytrynowe (E₄ i E₃ rozdzielono przez rechromatografię na ZnCO₃); F₁ — żółte; G₁ — żółtopomarańczowe; G₂ — pomarańczowe; G₃ — żółtopomarańczowe; G₄ — pomarańczowe; H — żółtozielone. Wymytą poprzednio warstwę A rechromatografowano na I Ca(OH)₂ (4). Rozwijano i wymywano eterem naftowym. Powstały dwie warstwy: górna pomarańczowoczerwona A₂ i dolna żółta A₁. Warstwę A₁ wymywano i rechromatografowano na MgO (5), gdzie otrzymano rozdział na pasmo górne żółte A₁''' i dwa fluoryzujące w UV pasma A₁'' i A₁'. Warstwę B rechromatografowano na I Ca(OH)₂ (3). Rozwijając eterem naftowym otrzymano dwa pasma: brudnopomarańczowe B₁ i czerwonoróżowe B₂. Warstwę C rechromatografowano na II Ca(OH)₂ (2). Po rozwinieciu eterem naftowym otrzymano 6 pasm: C₁ — brudnopomarańczowe; C₂ — różowoczerwone; C₃ — cytrynowe; C₄ — pomarańczowe; C₅ — pomarańczowoczerwone. Pasma te zostały wymyte 1–4% acetonem w eterze naftowym. Opis własności i identyfikację karotenoidów z poszczególnych pasm podaje tabela 1.

Pasma A₁' i A₁''. Bezbarwne, niebieskozielone fluoryzujące pasmo (6 mm) rechromatografowane na MgO, rozdzieliło się na dwa pasma A₁'' i A₁'. Barwniki obu pasm nie dawały reakcji ze stęż. HCl, przechodziły do epifazy i posiadały taką samą krzywą absorpcji (maksima w heksanie — 332, 348, 367 mμ ryc. 2). Przeprowadzenie izomeryzacji jodem wskazuje na to, że pasmo wyższe jest formą-trans, a niższe pasmo jest formą-cis. Powyższe dane oraz mieszany chromatogram z eluatom zawierającym fitofluen otrzymany z pasty pomidorowej według Petracka i Zechmeistera (1952), wskazuje na to, że są to izomery fitofluenu.

Pasma A₁'''. Pasma to barwy żółtej (7 mm) bardzo trudno rozdzielało się od pasma fluoryzującego. Barwnik tego pasma przechodził do epifazy, reakcji ze stężonym HCl nie dawał, a izomeryzacja prowadziła do przesunięcia maksimum o 3 mμ w kierunku krótszych fal. Maksima absorpcji 422, 445, 476 mμ w heksanie i mieszany chromatogram z α-karotenem otrzymanym z liści akacji, wskazywały na to, że jest to α-karoten.

Pasma A₂. Pasma (5 mm) pomarańczowoczerwone zawierało barwnik, który przechodził do epifazy. Krzywa absorpcji (maksima 426, 451, 482 mμ) była identyczna z krzywą dla β-karotenu. Przeprowadzenie mieszanego chromatogramu z β-karotenem chemicznie czystym nie dało rozdziału. To potwierdziło identyfikację tego barwnika jako β-karoten.

Pasma B₁. Brudnopomarańczowe pasmo (5 mm) trudno oddzielało się od różowopomarańczowego B₂. Barwnik tego pasma przechodził do epifazy. Po izomeryzacji jodem następowało przesunięcie głównego maksimum o 3 mμ w kierunku dłuższych fal (forma-cis). Maksima absorpcji w heksanie wynosiły 445, 475 mμ. Kształt krzywej, maksima absorpcji i zabarwienie pasma były zgodne z podanymi w literaturze (Goodwin 1952; Wright i in. 1959) dla neo-β-karotenu B. Tylko położenie barwnika na kolumnie było niezgodne z literaturą. Adsorbował się on powyżej β-karotenu. Ze względu na bardzo małe ilości tego barwnika nie przeprowadzano ostatecznej jego identyfikacji.

Pasma B₂. Było to wąskie (3 mm) różowoczerwone pasmo. Barwnik tego pasma przechodził do epifazy. Reakcja ze stężonym HCl była negatywna. Izomeryzacja jodem wskazywała konfi-

422, 446, 476 m μ i kształt krzywej (ryc. 4) były zgodne z danymi z literatury dla luteiny. Przeprowadzając krystalizację barwnika, otrzymano pomarańczowobrazowe kryształy.

Pasmo C₅. Barwa pasma żółta. Barwnik ten przed zmydleniem pozostawał w epifazie, po zmydleniu przechodził do hipofazy, co wskazuje na obecność dwu grup hydroksylowych zestryfikowanych. Dość trwałe zabarwienie ze stęż. HCl świadczyło o obecności grup epoksydowych. Maksima absorpcji 420, 422, 471 m μ w heksanie oraz kształt krzywej na ryc. 3 były zgodne z krzywą podaną przez Curla (1959) dla luteino-5,6-epoksydu.

Pasmo C₆. Szerokie (8 mm) pomarańczowoczerwone pasmo zawierało barwnik, który przy rozdziale fazowym po zmydleniu zachowywał się hipofazowo. Był to ester. Reakcja ze stęż. HCl

Ryc. 4. Widmo absorpcyjne w heksanie
Absorption spectrum in hexane

1 — luteina; 2 — zeaksantyna

Ryc. 5. Widmo absorpcyjne w benzenie
Absorption spectrum in benzene

1 — auroksantyna; 2 — flawoksantyna

była ujemna. Izomeryzacja jodem stwierdzała formę-trans. Maksima absorpcji w heksanie wynosiły 423, 451, 480 m μ . Kształt krzywej był charakterystyczny dla zeaksantyny. Przeprowadzono próby krystalizacji barwnika i otrzymano niewielkie ilości kryształów.

Pasmo D₁. Wąskie żółte pasmo (3 mm) zawierało barwnik, który przed zmydleniem przechodził do epifazy, po zmydleniu do hipofazy. Maksima absorpcji w heksanie 442, 472 m μ . Kształt krzywej absorpcji charakterystyczny był dla 5,6-epoksydów. Maksima te są charakterystyczne dla wiolaksantyny lub taraksantyny. Jednak brak zabarwienia ze stęż. HCl wskazywałby raczej na to, że jest to ester taraksantyny (Karrer, Jucker 1948).

Pasmo E₁. Było to wąskie (2 mm) czerwonoróżowe pasmo. Barwnik tego pasma przechodził do hipofazy tylko po zmydleniu. Poddany próbie izomeryzacji jodem zachowywał się jak cis-izomer (przesunięcie maksimum o 4 m μ w prawo). Ze stęż. HCl barwnik ten dawał bardzo łatwo ciemnoniebieskie trwałe zabarwienie. Krzywa absorpcji posiadała tylko 2 dobrze wykształcone maksima (427; 450,5 m μ w heksanie). Drugie maksimum było o 1/3 wyższe od pierwszego. Z powodu małego stężenia epoksyd ten nie został zidentyfikowany.

Pasmo E₂. Barwnik tego żółtego pasma (3 mm) dawał ze stęż. HCl nietrwałe niebieskie zabarwienie. Był to izomer-trans. Przed zmydleniem przechodził do epifazy, po zmydleniu do hipofazy. Współczynnik podziału pomiędzy heksan i metanol 95% wynosił 20:80, co wskazywałoby na obec-

ność dwu hydroksylowych grup. Krzywa absorpcji (ryc. 5) była charakterystyczna dla 5,8-epoksydów (oba maksima jednakowe). Maksima w heksanie wynosiły 422, 450 m μ . Powyższe dane pozwalają zidentyfikować ten barwnik jako flawoksantynę. Potwierdził to mieszaný chromatogram z flawoksantyną, otrzymaną z kwiatów *Calendula officinalis*.

Pasma E₃. Pasma E₃ i E₄ otrzymano przez rechromatografię na ZnCO₃. Cytrynowe (2 mm) pasmo posiadało barwnik, który dawał ze stęż. HCl ciemnoniebieskie zabarwienie, po izomeryzacji zachowywał się jak izomer-trans. Barwnik ten po zmydleniu przechodził do hipofazy. Maksima absorpcji w benzenie wynosiły 436, 465 m μ . Kształt krzywej był podobny do krzywej flawoksantyny tylko trzecie maksimum było trochę niższe. Jest to charakterystyczne dla mutatoksaantyny. Można więc przyjąć, że był to ester mutatoksaantyny.

Pasma E₄. Otrzymane przez rechromatografię na ZnCO₃ drugie cytrynowe pasmo miało maksima w benzenie 387, 410, 436 m μ . Krzywa (ryc. 5). posiadała dwa jednakowo wykształcone maksima, co wskazywało na obecność grup 5,8-epoksydowych. Ze stęż. HCl otrzymano ciemnoniebieskie trwałe zabarwienie. Przy rozdziale fazowym barwnik ten przed zmydleniem przechodził do epifazy, po zmydleniu — do hipofazy. To wszystko pozwala przyjąć, że jest to ester auroksantyny. Potwierdza to niebieskie zabarwienie otrzymane z 15% HCl.

Pasma F₁. Barwnik tego żółtego pasma (4 mm) dawał niebieskie zabarwienie ze stęż. HCl. Izomeryzacja jodem prowadziła do przesunięcia głównego maksimum o 3,5 m μ w kierunku krótszych fal. Współczynnik podziału 15:85 oraz zachowanie hipofazowe po zmydleniu prowadzi do wniosku, że był to związek posiadający dwie grupy hydroksylowe zestryfikowane. Maksima absorpcji w benzenie 432, 456, 486 m μ oraz kształt krzywej są zgodne z kształtem krzywej anteraksantyny (Curl 1959).

Pasma G₁. Było to żółtopomarańczowe pasmo. Reakcja ze stęż. HCl wskazywała na obecność grup epoksydowych. Z rozdziału zaś fazowego wynikało, że był to ester epoksydu. Izomeryzacja jodem prowadziła do przesunięcia głównego maksimum w kierunku krótszych fal, a więc była to trans-forma. Maksima w benzenie 408, 434, 461 m μ , kształt krzywej absorpcji i barwa pasma wskazywałyby na to że jest to trollichrom (Lippert, Karrer 1956).

Pasma G₂. Silnie zaadsorbowane pomarańczowe pasmo (3 mm) zawierało barwnik, który ze stęż. HCl dawał słabe niebieskie zabarwienie. Rozdział fazowy wskazywał na to, że był to ester epoksydu. Maksima absorpcji 433, 456, 484 m μ były zgodne z maksimami trolliksantyny (Lippert, Karrer 1956). Kształt krzywej był również podobny.

Pasma G₅. Barwnik tego żółtopomarańczowego pasma (2 mm) we wszystkich próbach zachowywał się jak barwnik pasma G₁. Jedynie rozdział fazowy wskazywał na to, że grupy hydroksylowe są niezestryfikowane, a więc był to wolny trollichrom.

Pasma G₄. Barwnik tego pasma (4 mm) zachowywał się jak barwnik pasma G₂, tylko do hipofazy przechodził bez zmydlenia. Była to więc trolliksantyna wolna.

Pasma H. Żółtozielone pasmo zawierało chlorofil.

2. Działki kielicha. Obraz chromatogramu działek kwiatu nasturcji był prawie identyczny z chromatogramem płatków. Układ pasm był taki sam, jedynie intensywność ich była znacznie mniejsza. Brak było tylko pasma B₁ i pasma G₃ i G₄. Pasma chlorofilu było znacznie szersze i intensywniejsze. Barwniki wyizolowane z poszczególnych pasm, własnościami całkowicie odpowiadały barwnikom z takich samych pasm płatków. Jakościowy i ilościowy skład karotenoidów działek kielicha przedstawiono w tabelach 2 i 3.

3. Pylniki wraz z pyłkiem. Obraz chromatogramu pylników wraz z pyłkiem był odmienny od chromatogramu płatków. Szczegółowy opis identyfikacji opisany był w poprzedniej pracy (Sykut 1965). Zawartości poszczególnych karotenoidów podano w tabelach 2 i 3.

4. Nitki pręcików wraz ze słupkiem. Chromatogram nitek pręcików był zasadniczo podobny do chromatogramu płatków. Różnił się przede wszystkim

Tabela 2 — Table 2

Zawartość poszczególnych karotenoidów w różnych częściach kwiatu nasturcji (*Tropaeolum maius*)Contents of carotenoids in different parts of Indian cress flowers (*Tropaeolum maius*)

Nazwa Name	μ/g suchej masy μ/g dry weight			
	płatki petals	działki kielicha calyx	pylniki i pyłek anthers and pollen	nitki pręcików stamens
Fytofluen				
Phytofluene	43,4	34,2		20,0
Alfa-karoten				
Alpha-carotene	62,5	32,8	540,0	61,2
Beta-karoten				
Beta-carotene	73,6	35,9	453,9	35,3
Neo-beta-karoten U				
Neo-beta-carotene U	33,1	12,2	136,0	
Neo-beta-karoten B				
Neo-beta-carotene B	6,6			
Delta-karoten				
Delta-carotene			69,6	
Neo-gamma-karoten				
Neo-gamma-carotene			74,6	5,4
Gamma-karoten				
Gamma-carotene			311,9	14,1
Hydroksy-alfa-karoten				
Hydroxy-alpha-carotene	20,9	11,2	19,2	4,3
Kryptoksantyna				
Cryptoxanthin	28,5	15,5	26,8	9,3
Alfa-karoteno-5,6-epoksyd				
Alpha-carotene-5,6-epoxide	505,3	94,0		21,3
Luteina				
Lutein	2408,7	414,4	65,6	86,0
Luteino-5,6-epoksyd				
Lutein-5,6-epoxide	283,7	57,7	19,6	8,2
Zeaksantyna				
Zeaxanthin	1204,5	404,6		63,7
Taraksantyna				
Taraxanthin	75,7	22,2		
Nieznany Y				
Unknown Y	21,4	4,4		
Flawoksantyna				
Flavoxanthin	55,4	16,7		
Mutatoksantyna				
Mutatoxanthin	93,8	25,9		15,7
Auroksantyna				
Auroxanthin	91,8	44,0		16,9
Anteraksantyna				
Antheraxanthin	156,6	37,0	52,5	12,6
Nieznany Z				
Unknown Z			37,2	
Trollichrom (ester)				
Trollichrome (esters)	37,4			
Trolliksantyna (ester)				
Trollixanthin (esters)	65,0			
Trollichrom (wolny)				
Trollichrome (free)	65,0	29,6		
Trolliksantyna (wolna)				
Trollixanthin (free)	120,7	66,8		17,7

Tabela 3 — Table 3

Zawartość poszczególnych karotenoidów w różnych częściach kwiatu nasturcji (*Tropaeolum maius*), wyrażone jako % ich sumy

Contents of carotenoids in different parts of Indian cress flowers (*Tropaeolum maius*), as % of total

Nazwa Name	% w sumie karotenoidów % of total carotenoids			
	płatki petals	działki kielicha calyx	pylniki i pyłek anthers and pollen	nitki pręcików stamens
Fytofluene	0,8	2,5		5,1
Phytofluene				
Alfa-karoten				
Alpha-carotene	1,2	2,4	30,0	15,6
Beta-karoten				
Beta-carotene	1,4	2,7	25,1	9,0
Neo-beta-karoten U				
Neo-beta-carotene U	0,6	0,9	7,5	
Neo-beta-karoten B				
Neo-beta-carotene B	0,1			
Delta-karoten				
Delta-carotene			3,8	
Neo-gamma-karoten				
Neo-gamma-carotene			4,1	1,4
Gamma-karoten				
Gamma-carotene			17,3	3,6
Hydroksy-alfa-karoten				
Hydroxy-alpha-carotene	0,4	0,8	1,1	1,1
Kryptoksantyna				
Cryptoxanthin	0,5	1,1	1,5	2,4
Alfa-karoteno-5,6-epoksyd				
Alpha-carotene-5,6-epoxide	9,3	6,9		5,5
Luteina				
Lutein	44,3	30,5	3,7	21,9
Luteino-5,6-epoksyd				
Lutein-5,6-epoxide	5,2	4,2	1,1	2,1
Zeaksantyna				
Zeaxanthin	22,1	29,8		16,3
Taraksantyna				
Taraxanthin	1,4	1,7		
Nieznany Y				
Unknown Y	0,4	0,4		
Flawoksantyna				
Flavoxanthin	1,0	1,2		
Mutatoksantyna				
Mutatoxanthin	1,7	1,9		4,0
Auroksantyna				
Auroxanthin	1,7	3,2		4,3
Anteraksantyna				
Antheraxanthin	2,9	2,7	2,9	3,2
Nieznany Z				
Unknown Z			2,0	
Trollichrom (ester)				
Trollichrome (esters)	0,7			
Trolleksantyna (ester)				
Trolloxanthin (esters)	1,2			
Trollichrom (wolny)				
Trollichrome (free)	1,2	2,2		
Trolleksantyna (wolna)				
Trolloxanthin (free)	2,2	4,9		4,5

stosunkowo szerszymi i intensywniejszymi pasmami karotenów (A_1' , A_1'' , A_1''' , B_1 i B_2). Pasma ksantofili były natomiast węższe i mniej intensywne niż w płatkach. Brak było pasm D_1 , E_1 , E_2 , G_1 , G_3 , G_4 . Zamiast zaś pasm neo- β -karotenu U i neo- β -karotenu B były pasma γ -karotenu i neo- γ -karotenu. Szczegółowy skład karotenoidów podano w tabelach 2 i 3.

Jakościowe i ilościowe porównanie występowania poszczególnych karotenoidów różnych części kwiatu nasturcji

Jak widać z tabeli 2 i 3, skład karotenoidów płatków i działek kielicha był pod względem jakościowym i ilościowym prawie identyczny. W działkach nie znaleziono tylko neo- β -karotenu B, a trollichrom i troliksantyna występowały tylko w formie niezestryfikowanej. Ogólne stężenie karotenoidów w płatkach było czterokrotnie wyższe niż w działkach (płatki 5354,5 $\mu\text{g/g}$ s.m., działki kielicha 1359,2 $\mu\text{g/g}$ s.m.). W płatkach, jak również w działkach ponad 90% sumy karotenoidów stanowiły ksantofile. Głównymi ksantofilami były tu luteina i zeaksantyna. Luteiny było znacznie więcej w płatkach (44,3%) niż w działkach (30,5%), a zeaksantyny odwrotnie, więcej było w działkach (29,5%) niż w płatkach (22,1%). Z epoksydowych karotenoidów najbogaciej reprezentowane były α -karoteno-5,6-epoksyd, luteino 5,6-epoksyd, troliksantyna i auroksantyna. Procentowy udział sumy karotenów w działkach kielicha (8,5%) był dwukrotnie większy niż w płatkach (4%). Udział fytofluenu był trzy razy większy w działkach niż w płatkach. Zawartość poszczególnych karotenoidów w płatkach były znacznie wyższe niż w działkach (tab. 3), a mianowicie dla karotenów hydroksy- α -karotenu, kryptoksantyny, auroksantyny, trollichromu i troliksantyny różnice te były dwukrotne, a dla reszty karotenoidów czterokrotne.

Skład jakościowy karotenoidów nitek pręcików był w zakresie głównych związków podobny do składu karotenoidów płatków. Pewne różnice wystąpiły w składzie ubocznych karotenoidów, a mianowicie brak tu było cis-izomerów β -karotenu i kilka epoksydów (taraksantyny, nieznanego Z, flawoksantyny i trollichromu). Występowały tu natomiast nieobecne w płatkach neo- γ -karoten i γ -karoten. Skład ilościowy był całkiem różny. Stężenia wszystkich związków, z wyjątkiem α -karotenu, były wybitnie niższe niż w płatkach, a skład sumy zupełnie odrębny. Zawartość α -karotenu była prawie równa zawartości α -karotenu w płatkach nitki pręcików — 61,2 $\mu\text{g/g}$ s.m., tj. 15,6%, płatki — 62,5 $\mu\text{g/g}$, tj. 1,2%). Zwraca tu uwagę wysoki procent karotenów (34,7%) i najwyższy spośród wszystkich części kwiatu udział fytofluenu (5,1%).

Zupełnie odrębny był skład jakościowy i ilościowy pylników. Podstawowymi karotenoidami były tu karoteny. Stanowiły one 87,8%. Ksantofile natomiast stanowiły tylko 12,2% sumy karotenoidów. Karoteny występowały tu w bardzo dużym stężeniu. Stężenie α -karotenu wynosiło 540 $\mu\text{g/g}$ s.m., co stanowi 30% sumy karotenoidów. Stężenie zaś β -karotenu wynosiło 453,9 $\mu\text{g/g}$ s.m. tj. 25,1%. W pylnikach znaleziono również znaczne ilości γ -karotenu (17,3%) i δ -karotenu (13,8%). Cis-izomery były tu reprezentowane najbogaciej ze wszystkich części kwiatu. Stwier-

dzono tu 136 $\mu\text{g/g}$ s.m. neo- β -karotenu U (7,5%) i 74,6 $\mu\text{g/g}$ s.m. neo- γ -karotenu (4,1%). Nie stwierdzono natomiast obecności fytofluenów, występujących we wszystkich pozostałych częściach kwiatu. Głównym ksantofilem była tu luteina. Stężenie jej było prawie cztery razy niższe niż w płatkach (płatki — 2408,7 $\mu\text{g/g}$ s.m., co stanowi 44,3%; pylniki 65,5 $\mu\text{g/g}$ s.m. — 3,7%). Stężenia kryptoksantyny i hydroksy- α -karotenu były bardzo zbliżone do tych w płatkach. Natomiast stężenia epoksydów były znacznie niższe w porównaniu z płatkami.

DYSKUSJA

Kwiaty nasturcji (*Tropaeolum maius*) zawierają stosunkowo dużo karotenoidów. Największe ich stężenie jest w płatkach — 551,9 $\mu\text{g/g}$ sw.m. (5453,7 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Pylniki wraz z pyłkiem również są bogate w karotenoidy, bo znaleziono tam 477,6 $\mu\text{g/g}$ sw.m. (2004,9 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Najuboższe nitki pręcików ze słupkiem zawierały tylko 54,1 $\mu\text{g/g}$ sw.m. (391,6 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Ogólne stężenie karotenoidów w innych kwiatach jest również wysokie. W płatkach kwiatów *Delonix regia* badanych przez Jungalwala i Cama (1962), zawartość karotenoidów wynosiła 1290 $\mu\text{g/g}$ s.m., a w pylnikach aż 5700 $\mu\text{g/g}$ s.m. Najniższa była również w nitkach pręcików (360 $\mu\text{g/g}$ s.m.). Porównując ogólne stężenie karotenoidów płatków nasturcji i zielonych fotosyntetyzujących tkanek, można stwierdzić, że w płatkach kwiatu nasturcji jest ona wyższa. Np. w trawach paszowych ogólne stężenie luteiny i karotenów (dominujące składniki zielonych roślin) wynosiło tylko 45–60 $\mu\text{g/g}$ sw. m. (Goodwin 1952), a w liściach buku i dębu 1049 i 1065 $\mu\text{g/g}$ s.m.) Leonowicz, Sapiecha, Wierzchowski 1962).

Skład karotenoidów różnych części kwiatu nasturcji był różnorodny. Ogółem we wszystkich częściach stwierdzono obecność 25 karotenoidów (dobrze zidentyfikowano 17 związków, 6 tylko częściowo, 2 związki nie zostały zidentyfikowane). Porównując skład karotenoidów różnych części kwiatu nasturcji z wynikami badań kwiatu *Delonix regia* (Jungalwala, Cama 1962), można stwierdzić, że w obu wypadkach najbardziej różnorodny skład karotenoidów miały płatki. Płatki nasturcji zawierały 19 karotenoidów (*D. regia* — 28), a pylniki tylko 12 (*D. regia* — 10).

Płatki korony i działki kielicha kwiatu nasturcji miały niemalże taki sam skład jakościowy lecz różny ilościowy. W obu wypadkach przeważały ksantofile (płatki 96%, działki kielicha — 91,4%). Zgodne to jest z danymi z literatury. Olbrzymia bowiem większość badanych dotychczas płatków kwiatowych zawierała głównie ksantofile i ich epoksydowe pochodne (Goodwin 1952).

Skład karotenoidów pylników kwiatu nasturcji był zupełnie różny od składu karotenoidów pozostałych części kwiatu. Karoteny stanowiły tu aż 87,8% sumy karotenoidów. W literaturze nie spotyka się wzmianek o tak dużym stężeniu karotenów w pylnikach. Vivino i Palmer (Goodwin 1952) przebadali wiele gatunków roślin i znaleźli tam tylko ślady β -karotenu. Również Karrer, Eugster i Faust (1950) w pyłku badanych kwiatów znaleźli tylko ślady β -karotenu. W kwiatach *D. regia* (Jungalwala, Cama 1962) karoteny stanowiły tylko 2% sumy karotenoidów.

Obecność w pylnikach nasturcji tak dużej koncentracji karotenów (540 $\mu\text{g/g}$ s.m. α -karotenu, 453,9 $\mu\text{g/g}$ s.m. β -karotenu, 311,9 $\mu\text{g/g}$ s.m. γ -karotenu) jest bardzo charakterystyczna i zapewne nie jest bez znaczenia ze względu na rolę pylników w funkcji biologicznej kwiatów.

Karoteny we wszystkich częściach kwiatów były reprezentowane przez 8 związków. Stężenie jednego z karotenów — fytofluenu wynosiło w płatkach 0,8% sumy (4,4 $\mu\text{g/g}$ św.m.). W działkach kielicha i nitkach pręcików było ono stosunkowo większe niż w płatkach (kielichy 2,5%, nitki pręcików 5,1%). W pylnikach natomiast fytofluenu nie znaleziono. Wyniki otrzymane dla nasturcji są zgodne z literaturą ponieważ Zechmeister i Sandoval (1945), badając płatki kwiatów kilkunastu gatunków roślin, znaleźli od 0,2—32,5 $\mu\text{g/g}$ św. m. fytofluenu. O obecności fytofluenu w pylnikach i pyłku żadnych wzmianek w literaturze nie spotkano (Goodwin 1952, Jungalwala, Cama 1962).

α -Karoten we wszystkich częściach kwiatu nasturcji posiadał stężenie prawie równe stężeniu β -karotenu. Jak dotychczas podawała literatura α -karoten w materiale roślinnym występuje przeważnie w niewielkich ilościach. Nasze poprzednie badania stwierdziły jednakże u wielu drzew liściastych i iglastych oraz zielonych roślin dziko rosnących w lesie (Wierzchowski, Leonowicz, Sapiecha, Sykut 1962), a także w kwiatach łubinu żółtego (Sykut, Wierzchowski 1958) dość wysoki udział α -karotenu w ogólnej zawartości (18—50%).

We wszystkich częściach kwiatu nasturcji stwierdzono obecność cis-izomerów karotenoidów. Związki te w przyrodzie zostały znalezione dopiero w 1942 r. w zielonych trawach.

Obecnie jednak coraz częściej różni autorzy donoszą o obecności cis-izomerów w materiale roślinnym (Jungalwala, Cama 1962; Wright i in. 1959; Suzuki, Tsukida 1959; Zechmeister 1962). Niektórzy autorzy twierdzą, że cis-izomery mogą się tworzyć w badanym materiale podczas analizy tych związków (Zechmeister 1962) i podkreślają konieczność zachowania odpowiednich warunków przy pracy. W naszych badaniach wszelkie możliwe środki ostrożności były zachowane (przechowywano próbki w eterze naftowym w -15°C w ciemni, chromatogramy chroniono od światła). Możliwe jest, że tworzenie się cis-izomerów w roślinie uzależnione jest od warunków, w jakich ona rośnie (nasłonecznienie). Dlatego też chyba nie można cis-izomerów traktować jako stałych składników sumy karotenoidów danej rośliny.

Z jednohydroksy-pochodnych we wszystkich częściach kwiatu nasturcji występowały dwa barwniki bardzo trudne do rozdzielenia od siebie: hydroksy- α -karoten i kryptoksantina. W soku pomarańczy w 1956 r. Curl (1956) stwierdził obecność towarzyszącego kryptoksantynie związku, który nazwał hydroksy- α -karotenem. Porównując krzywą absorpcji i własności związku znalezionej w nasturcji należy przypuszczać, że to jest również hydroksy- α -karoten.

Głównymi ksantofilami płatków, działek kielicha i nitek pręcików kwiatu nasturcji były luteina i zeaksantina. Luteina jest to karotenoid zielonych liści, który jednak prawie zawsze występuje w płatkach kwiatów. Już w 1930 r. Kuhn i Winterstein (1930) wykrystalizowali ester luteiny w ekstrakcie otrzymanego

z płatków nasturcji. Nasze badania wykazały, że stężenie luteiny w nasturcji było bardzo duże (w płatkach 2408,7 $\mu\text{g/g}$ s.m., w działkach 414,4 $\mu\text{g/g}$ s.m., w nitkach pręcików 86 $\mu\text{g/g}$ s.m.). W pylnikach luteiny było tylko 3,7%. W pylnikach kwiatu *D. regia* (Jungalwala, Cama 1962) autorzy nie znaleźli luteiny, natomiast w pyłku kwiatów badanych przez Karrera i innych (1950) była ona głównym składnikiem. Koncentracja zeaksantyny w kwiatach nasturcji była również wysoka (płatki 22,1%, działki 29%, nitki pręcików 16,3%).-

Spośród epoksydów występujących w kwiatach nasturcji największe stężenie posiadały α -karoteno-5,6-epoksyd i luteino-5,6-epoksyd. Są to epoksydy typowe dla płatków kwiatowych. Luteino-5,6-epoksyd występował również we wszystkich częściach kwiatu *D. regia* (Jungalwala, Cama 1962).

Głównym epoksydem pylników wraz z pyłkiem kwiatu nasturcji jest trans-anteraksantyna (2,9%). Dotychczas przypuszczano, że stałym składnikiem karotenoidów w pylniku jest cis-anteraksantyna (Goodwin 1952). W pylnikach nasturcji znaleziono tylko formę-trans. Trans-anteraksantyna została również wykryta w pylnikach *D. regia*.

Z furanoidowych epoksydów w kwiatach nasturcji występowały: mutatoksaantyna, flawoksaantyna, auroksantyna i trollichrom. Flawoksaantyna często występuje w kwiatach (np. *Calendula officinalis* — 24%). Towarzyszy jej zwykle chryzantemoksaantyna, której w kwiatach nasturcji nie znaleziono. Trollichrom i trolliksantyna były to jedyne ksantofile występujące w kwiatach nasturcji w formie wolnej i zestryfikowanej. Budowa tych związków jest jeszcze niedokładnie określona. Są to karotenoidy specyficzne dla kwiatów *Trollius europeus* (Lippert, Karrer 1956).

Jak widać w płatkach, działkach kielicha i nitkach pręcików kwiatów nasturcji występowała duża ilość epoksydów. Rola ich w biogenezie jest jeszcze nieznaną. Niektórzy autorzy przypuszczają, że pośredniczą one w przenoszeniu tlenu podczas tworzenia się ksantofili. Fakt występowania w kwiatach nasturcji obok siebie β -karotenu i jego pochodnych (hydroksy-pochodne, epoksydy), oraz α -karotenu i jego pochodnych, prowadzi do przypuszczenia, że w okresie wzrostu kwiatu β - i α -karoteny są prekursorami swoich pochodnych.

WNIOSKI

1) Kwiaty nasturcji są materiałem bogatym w karotenoidy, które są rozmieszczone nierównomiernie w różnych częściach kwiatu (płatki — 5354,7 $\mu\text{g/g}$ s.m.; działki — 1359,2 $\mu\text{g/g}$ s.m.; nitki pręcików — 391,6 $\mu\text{g/g}$; pylniki — 1804,5 $\mu\text{g/g}$ s.m.).

2) Skład jakościowy karotenoidów różnych części kwiatu jest różnorodny. W płatkach stwierdzono obecność 19 karotenoidów, w działkach 18, w nitkach pręcików 15, a w pylnikach 12.

3) Głównymi karotenoidami pylników, działek kielicha i nitek pręcików są ksantofile (płatki — 96% sumy karotenoidów; działki kielicha — 91,4%; nitki — 65,3%).

- 4) Pylniki posiadają odrębny i mało spotykany skład albowiem ksantofile stanowią tu tylko 12,2%.
- 5) We wszystkich częściach kwiatu znajdują się cis-izomery.
- 6) Fytoflueny występują we wszystkich częściach kwiatu z wyjątkiem pylników.

Panu Prof. Dr Z. Wierzchowskiemu składam serdeczne podziękowanie za cenne wskazówki udzielane mi podczas tych badań.

Katedra Chemii Ogólnej Wyższej Szkoły Rolniczej
w Lublinie

(Wpłynęło dn. 4.5.1965 r.)

SUMMARY

The carotenoid composition was determined in all parts of the flower of nasturtium (*Tropaeolum maius*). The experiments were conducted over three vegetation periods (1960—1962). Petals, sepals, anthers with pollen and filaments with pistil were analyzed separately. The carotenoids were isolated from the plant material by extraction of the comminuted material with an acetone — petroleum ether 1:1 (v/v) mixture. Chromatographic separation was done on a $MgCO_3$ column, and rechromatography on $Ca(OH)_2$, MgO , $ZnCO_3$ and $CaCO_3$. In the eluates purified by rechromatographing, carotenoids were determined quantitatively in a Pulfrich photometer with Elpho 2 attachment and S 45 (λ_{max} 450 m μ) and S 47 (λ_{max} 465 m μ) filters for carotenes and xanthophylls, respectively. The pigments were identified spectrophotometrically and by specific tests: phase separation, establishment of cis-trans configuration, test for presence of epoxide groups, mixed chromatograms, localization and colour of bands and crystallization of some of the compounds.

The results obtained proved that nasturtium flowers are rich in carotenoids which are unequally distributed in various parts of the flower.

a) In the petals carotenoid concentration was 5354.7 $\mu g/g$ of dry weight. The presence of 19 carotenoids was ascertained (5 of which have not been identified definitively). The chief carotenoids were lutein — 44.3 percent and zeaxanthin — 22.1 percent.

b) The carotenoid concentration in the sepals was 1359.2 $\mu g/g$ dry weight. Eighteen carotenoids were revealed (4 of which were not definitively identified). The chief carotenoids were lutein — 30.5 percent and zeaxanthin — 29.8 percent.

c) The concentration of carotenoids in the stamen filaments with pistil was 391.6 $\mu g/g$ dry weight. The presence of 15 carotenoids was revealed (3 not definitively identified). The chief carotenoids found were α -carotene — 15.6 percent, luteine — 21.9 percent, zeaxanthine — 16.3 percent and β -carotene — 9.3 percent.

d) In the anthers with pollen the total carotenoid concentration was 1804.5 $\mu g/g$ of dry weight. Twelve carotenoids were found (4 not definitively identified). The chief carotenoids were α -carotene — 30 percent, β -carotene — 25.1 percent, and γ -carotene — 17.3 percent.

The carotenoid composition of the petals and sepals was very similar. Xanthophylls were here in majority (in petals 96%). In the anthers xanthophylls constituted only 12.2 percent of total carotenoids. In all the parts of the flower α -carotene concentration equalled that of β -carotene. Phytofluenes occurred in the petals, sepals and stamen filaments but were absent in the anthers.

LITERATURA

- Booth V. H., 1963, Rapidity of Carotene Biosynthesis in *Narcissus*, *Biochem. J.* 87:238.
Curl A. L., 1956, On the Structure of "Hydroxy- α -carotene" from Orange Juice, *Food Res.* 21: 689.

- Curl A. L., 1959, The Carotenoids of Cling Peaches, *Food Res.* 24(4):413.
- Goodwin T. W., 1952, *The Comparative Biochemistry of the Carotenoids*, London, Chapman.
- Goodwin T. W., 1954, The Carotenoids of the Flower Petals of *Calendula officinalis*, *Biochem. J.* 58 (1):90.
- Jungalwala F. B., Cama H. R., 1962, Carotenoids in *Delonix regia* flowers, *Biochem. J.* 85:1.
- Karrer P., Eugster C. H., Faust M., 1950, Über das Auftreten von Carotinoiden in Pollen und Staubbeuteln verschiedener Pflanzen, *Helv. Chim. Acta* 33:300.
- Karrer P., Jucker E., 1948, *Carotinoide*, Birkhäuser, Basel.
- Kuhn R., Winterstein A., 1930, Über die Verbreitung des Lutein in Pflanzenreich, *Naturwiss.* 18:754.
- Leonowicz A., Sapięcha K., Wierzychowski Z., 1962, Xanthophylls in tree leaves during the vegetation period, *Bull. Acad. Pol. Sci. Cl II* (12):505.
- Lippert M., Karrer P., 1956, Ein Zweites Pigment aus den Blüten von *Trollius europeus* — Trolliflor, *Helv. Chim. Acta* 39:698.
- Lubliner-Mianowska K., 1955, O barwnikach ziarn pyłkowych, *Acta Soc. Bot. Pol.* 14(3):609.
- Peach K., Tracey M. V., 1955, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Berlin, Springer-Verlag.
- Petracek F. I., Zechmeister L., 1952, Stereoisomeric Phytofluene, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74:184.
- Petracek F. I., Zechmeister L., 1956, Determination of Partition Coefficient of Carotenoids as a Tool in Pigment Analysis, *Analyt. Chem.* 28(9):1484.
- Sykut A., 1965, Karotenoidy pylników kwiatów naturcji. *Bull. Acad. Pol. Sci. Ser. Biolog.*, 12(5):257
- Sykut A., Wierzychowski Z., 1958, Studia nad występowaniem α - i β -karotenów w świecie roślinnym. Cz. II Rośliny pastewne — łubin, *Ann. UMCS C* 13(15):261.
- Suzuki N., Tsukida K., 1959, Carotenoids of the Flowers of *Osmanthus fragrans*, *Chem. pharm. Bull. (Tokyo)* 7 (1):133.
- Wierzychowski Z., Leonowicz A., Sapięcha K., Sykut A., 1957, Studia nad występowaniem α - i β -karotenu w świecie roślinnym. Cz. I Drzewa, *Ann. UMCS C* 12 (10):141.
- Wierzychowski Z., Leonowicz A., Sapięcha K., Sykut A., 1962, Liście drzew jako źródło prowitaminowych karotenów, *RNR*, 81-B-1:87.
- Wright H. P., Burton J. W., Berny R. C., 1959, Carotenoids and colourless polyenes in leaves tobacco, *Arch. Biochem. Biophys.* 82:107.
- Zechmeister L., 1962, *Cis-trans Isomeric Carotenoids Vitamins A and Arylpolyenes*, Wien, Springer.
- Zechmeister L., Cholnoky L. V., 1932, Über den Farbstoff der Ringelbäume *Calendula officinalis*, *Ztschr. f. physiol. Ch.* 208:26.
- Zechmeister L., Karmakav G., 1953, The Occurrence of Phytofluene in Green Plant Organs, *Arch. Biochem. Biophys.* 47(1):160.
- Zechmeister L., Sandoval A., 1945, The Occurrence and Estimation of Phytofluene in Plants, *Arch. Biochem.* 8:425