

不同籽粒颜色玉米自交系类胡萝卜素含量分析

朱航^{1,2} 崔方庆^{2,3} 卢传礼² 陈卫卫² 李旭辉²
陆思奇^{2,3} 张湘博² 赵华⁴ 齐永文^{2,3}

(¹长江大学农学院, 434025, 湖北荆州; ²广东省科学院南繁种业研究所, 510316, 广东广州; ³仲恺农业工程学院农业与生物学院, 510100, 广东广州; ⁴广州国家现代农业产业科技创新中心, 510520, 广东广州)

摘要 采用高效液相色谱检测 60 个不同玉米籽粒颜色自交系中类胡萝卜素(叶黄素、玉米黄质、 β -隐黄质和 β -胡萝卜素)含量, 结果显示, 叶黄素、玉米黄质、 β -隐黄质和 β -胡萝卜素的平均含量分别为 56.32、0.85、1.31 和 5.75mg/kg。按籽粒颜色由浅到深, 将 60 个玉米自交系分为 4 个等级, 颜色越深的品种类胡萝卜素含量越高。对 R、G、B、Gray 值与类胡萝卜素含量进行相关分析表明, R、G、B 和 Gray 值之间存在极显著正相关($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.992 (G 与 Gray) 和 0.939 (R 与 Gray), 4 种类胡萝卜素含量间呈极显著正相关, 相关系数分别为 0.830 (β -隐黄质与 β -胡萝卜素) 和 0.815 (β -隐黄质与玉米黄质)。根据类胡萝卜素含量对 60 个玉米自交系进行聚类分析, 60 个自交系分为 5 类, 其中第 1 类类胡萝卜素含量最低, 第 2 类属于中富含类胡萝卜素的自交系, 第 5 类属于高维生素 A 含量的自交系。综上可知, 类胡萝卜素的种类及其含量是影响籽粒颜色的重要因素, 可为培育高胡萝卜素含量的玉米品种提供依据。

关键词 玉米; 类胡萝卜素; 高效液相色谱法

玉米作为主要粮食作物之一, 含有对人体有益的核黄素、多种微量元素和维生素 A (V_A) 等化学物质^[1]。目前, 自然界中已有 750 余种类胡萝卜素被研究^[2]。近年来, 在玉米 V_A 源物质类胡萝卜素的合成分子机制方面的研究取得了重要进展, 鉴定了一些与类胡萝卜素合成的关键 QTL 位点。开展了 *lcyE*、*crtRB*、*PSY1* 和 *crtRB3* 等类胡萝卜素合成关键基因的多态性对玉米籽粒中类胡萝卜素含量的影响, 开发了功能位点的分子标记, 为实施利用分子标记加快高 V_A 品种的选育提供了重要的方法^[3]。对玉米籽粒中类胡萝卜素研究鉴定出叶黄素、玉米黄质、 β -隐黄质和 β -胡萝卜素 4 种主要的类胡萝卜素^[4-5]。类胡萝卜素最主要的分离方法有高效液相色谱法^[6-8]、超高效液相色谱法^[9]、分光光度法^[10]、超临界流体色谱法^[11]、拉曼光谱法^[12]和液相色谱一串联质谱法^[13]等。类胡萝卜素是一种对身体有益的健康天然食用色素, 以黄色、橙色或红色表现出来, 不仅具有为食品添色的功效, 还含有较高的保健价值^[14]。因其具有抗氧化和抗衰老等特点,

被视为一类抗氧化剂。类胡萝卜素含有对人体有益的叶黄素、玉米黄质、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素等^[15-16], 其中叶黄素和玉米黄质对缓解癌症和降低心血管疾病等方面具有较好的效果^[17]。类胡萝卜素对人体健康有十分重要的作用, 可在食品和医药等行业大规模应用^[18-19]。

陈洁琼等^[20]对 5 种鲜食甜、糯玉米籽粒中类胡萝卜素含量进行分析, 发现不同种类玉米籽粒中的类胡萝卜素含量差别较大, 甜玉米籽粒 (39.68mg/kg) 比糯玉米 (2.10~3.69mg/kg) 高出十几倍。章园等^[21]对黄玉米不同时期籽粒类胡萝卜素含量进行分析, 发现玉米黄质、叶黄素和 β -隐黄质含量水平随着籽粒成熟度的提高总体呈上升趋势, β -胡萝卜素含量无明显变化。严华等^[22]使用高效液相色谱分析法对沙棘中 4 种类胡萝卜素进行检测, 发现不同品种沙棘中类胡萝卜素含量具有较大差异。郭艳等^[23]采用液相色谱法对甘蓝不同颜色花的类胡萝卜素含量进行检测, 发现玉米黄质、 β -胡萝卜素和叶黄素等是导致花瓣颜色变化的主要

作者简介: 朱航, 研究方向为作物分子育种, E-mail: 18209219830@163.com

齐永文为通信作者, 研究方向为作物分子育种, E-mail: yongwen2001@126.com; 赵华为共同通信作者, 研究方向为农业育种研究及科技推广, E-mail: 281277430@qq.com

基金项目: 国家甘蔗产业技术体系 (CARS201707); 广东省重点领域研发计划 (2019B020238001); 国家自然科学基金 (32072027)

收稿日期: 2022-04-16; 修回日期: 2022-06-15; 网络出版日期: 2022-07-27

原因。

本试验用高效液相色谱技术测定不同籽粒颜色玉米自交系叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素 4 种类胡萝卜素含量，探究玉米籽粒中类胡萝卜素含量与籽粒颜色间的关系，为优质玉米品种培育提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

依据颜色等级挑选 60 个自交系组成的自然群体作为试验材料（表 1），所有材料均来自中国农业大学赖锦盛教授实验室^[24]。试验材料于 2020 年

表 1 60 份供试材料
Table 1 60 tested materials

编号 Number	材料名称 Material name	编号 Number	材料名称 Material name	编号 Number	材料名称 Material name	编号 Number	材料名称 Material name	编号 Number	材料名称 Material name
C1	CAU404	C13	CAU204	C25	CAU532	C37	IL18	C49	CAU206
C2	CAU322	C14	CAU366	C26	B73	C38	CAU319	C50	CAU393
C3	CAU440	C15	CAU55	C27	CAU489	C39	CAU75	C51	CAU149
C4	IL23	C16	CAU281	C28	CAU482	C40	CAU146	C52	CAU129
C5	CAU252	C17	CAU219	C29	IL5	C41	CAU164	C53	CAU479
C6	CAU268	C18	CAU140	C30	CAU167	C42	CAU274	C54	CAU261
C7	IL52	C19	CAU597	C31	CAU208	C43	CAU269	C55	IL51
C8	CAU501	C20	CAU338	C32	CAU14	C44	CAU565	C56	IL27
C9	CAU263	C21	CAU513	C33	CAU342	C45	IL86	C57	IL65
C10	CAU159	C22	CAU640	C34	CAU93	C46	CAU502	C58	CAU18
C11	CAU297	C23	CAU525	C35	CAU365	C47	CAU539	C59	CAU160
C12	CAU144	C24	CAU504	C36	CAU416	C48	CAU154	C60	CAU225

下半年种植于广东省韶关市翁源县（114°7'48" E，24°21'0" N）。

1.2 仪器与设备

仪器为高效液相色谱仪、6530 Q-TOF 精确质量级四极杆—飞行时间质谱仪（atmospheric pressure chemical ionization, APCI）、精宏水浴锅、真空离心浓缩仪 Eppendorf concentrator 5301 和扫描仪（Imagescanner III）。试验用的叶黄素、玉米黄质、β-胡萝卜素和β-隐黄质的标准品来自美国 Sigma 公司。甲基叔丁基醚（methyl tert-butyl ether, MTBE）和甲醇均为色谱级，环己烷、乙醇、无水硫酸钠和氢氧化钾等均为分析纯。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 玉米籽粒颜色鉴定 每个自交系挑选外观一致的种子约 30 粒，使用 EPSON EU-88 扫描设备和 EPSON Scan 软件进行图像数据采集，获得初始图片进行提取和计算，得到 60 份材料籽粒颜色的 R（红色）、G（绿色）、B（蓝色）和 Gray（灰度）值数据。并将 60 份玉米自交系籽粒色泽分为 4 个等级（图 1），等级 1 为白色，等级 2 为黄色，等级 3 为橙黄色，等级 4 为紫黑色，以此为籽粒颜色

的视觉分级表型数据。

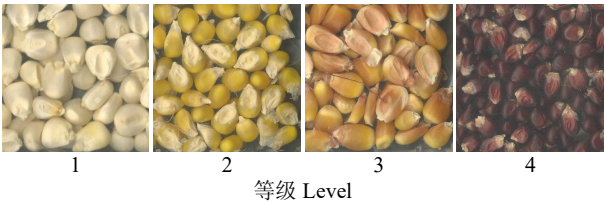


图 1 玉米籽粒颜色分级
Fig.1 The color grades of maize kernels

1.3.2 玉米中类胡萝卜素的提取 成熟的玉米籽粒经磨样机粉碎研磨后，称量 3.0g 置于 50.0mL 离心管中，加入乙醇 30mL（含 0.1% BHT），密封摇匀，85℃水浴加热孵育 20min，加入 80% KOH 0.6mL 溶液，水浴 60min 进行皂化后冰水冷却，将皂化溶剂放入分液漏斗中，加入环己烷 30.0mL 和去离子水 15.0mL 振荡摇匀，重复 2 次。加入无水硫酸钠 5.0g 过滤，收集分液漏斗中上层溶液，减压浓缩至干燥，用乙腈—甲醇（75:25，V/V）溶液溶解，将溶液过 0.22μL 有机系滤膜后进行高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）测定，整个前处理过程注意避光^[25]。

1.3.3 高效液相色谱分析 色谱柱: YMC carotenoid

(250×4.6mm, 5μm) 色谱柱; 柱温: 30℃; 检测器波长为 325 和 450nm; 流动相: A 为甲醇-MTBE-水 (81:15:4, V/V), B 为甲醇-MTBE-水 (6:90:4, V/V), 进样 20μL; 线性梯度洗脱, 流速为 1mL/min。洗脱程序: 0~12.5min (100% B), 12.5~25min

(0%B)。DAD 检测器测定波长为 450nm。

1.3.4 类胡萝卜素组分定性定量分析 对于有标样的部分加以比较, 利用保留时间的统一性加以测定, 并利用外标定量法建立回归方程, 对玉米类胡萝卜素各组含量作出量化分析 (表 2)。

表 2 混合标准液浓度
Table 2 Concentration of mixed standard solution

标准样品 Standard sample	水平 1 Level 1	水平 2 Level 2	水平 3 Level 3	水平 4 Level 4	水平 5 Level 5	水平 6 Level 6
叶黄素 Lutein	200.00	100.00	50.00	25.00	12.50	6.25
玉米黄质 Zeaxanthin	200.00	50.00	12.50	3.13	0.78	0.20
β-隐黄质 β-cryptoxanthin	100.00	20.00	4.00	0.80	0.16	0.03
β-胡萝卜素 β-carotene	72.50	36.25	18.13	9.06	4.53	2.27

1.4 数据处理

利用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析及组间差异的 Duncan’s 多重比较, 采用 SPSS 分析变量间的 Pearson 相关系数进行相关性分析, 用 GraphPad Prism 5 作图。

2 结果与分析

2.1 玉米类胡萝卜素含量统计的回归方程

采用外标定量法进行试样中各组分峰的定量。

配制标准溶液样品, 按上述色谱要求计算标准试样的相对峰面积, 由相对峰面积-进样量关系, 按线性回归方式得出其中 4 种主要类胡萝卜素线性回归方程、相关系数值与线性范围, 结果见表 3。试样中各组分的含量使用的标准曲线数据, 3 次重复, 取平均值。

2.2 不同自交系中类胡萝卜素含量分布

60 份玉米自交系籽粒类胡萝卜素检测 (表 4) 表明, 玉米籽粒中含有丰富的类胡萝卜素, 且变化

表 3 4 种类胡萝卜素的线性范围及相关系数
Table 3 Linear range and correlation coefficients of the four carotenoid groups

标准样品 Standard sample	线性范围 Linear range (mg/kg)	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient (r ²)
叶黄素 Lutein	6.0~200	Y ₁ =0.015X ₁	0.9905
玉米黄质 Zeaxanthin	0.0~200	Y ₂ =0.3023X ₂ +0.1171	0.9958
β-隐黄质 β-cryptoxanthin	0.0~100	Y ₃ =0.1119X ₃ -0.1048	0.9976
β-胡萝卜素 β-carotene	2.0~75	Y ₄ =0.0023X ₄ +0.0022	0.9988

Y₁、Y₂、Y₃ 和 Y₄ 分别为叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素的峰面积, X₁、X₂、X₃ 和 X₄ 分别为其对应的进样量 (ng)
Y₁, Y₂, Y₃ and Y₄ are the peak areas of lutein, zeaxanthin, β-cryptoxanthin and β-carotene, the peak areas of X₁, X₂, X₃ and X₄ are their corresponding injection volumes (ng), respectively

范围在 1.49~119.31mg/kg。其中, 总类胡萝卜素含量占比最低的是自交系 C1, 仅有 1.49mg/kg, 最高的自交系为 C47, 可达 119.31mg/kg, 最高与最低含量之间相差近 80 倍。60 份玉米自交系叶黄素平均含量为 56.32mg/kg, 其中 C27 含量最高, 达 99.98mg/kg, C1 含量最低, 为 0.56mg/kg; 玉米黄质平均含量为 0.85mg/kg, 其中 C35 含量最高, 达 2.91mg/kg, C14 含量最低, 为 0.02mg/kg; β-隐黄质平均含量为 1.31mg/kg, 其中 C27 含量最高, 达 2.20mg/kg, C1 含量最低, 为 0.94mg/kg; β-胡萝卜素平均含量为 5.75mg/kg, 其中 C52 号含量最高, 达 26.61mg/kg, C19 含量最低, 为 0.61mg/kg。

表 4 玉米自交系的类胡萝卜素含量统计分析
Table 4 Statistical analysis of carotenoid content of maize inbred lines

标准样品 Standard sample	最大值 Maximum	最小值 Minimum	平均值 Average	方差 Variance
叶黄素 Lutein	99.98	0.56	56.32	776.29
玉米黄质 Zeaxanthin	2.91	0.02	0.85	0.54
β-隐黄质 β-cryptoxanthin	2.20	0.94	1.31	0.11
β-胡萝卜素 β-carotene	26.61	0.61	5.75	35.57

2.3 不同颜色等级籽粒中类胡萝卜素的含量

图 2 和表 5 表明, 叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素含量在 4 个籽粒颜色等级中表现出显著的遗传多样性, 不同颜色等级间具有较大

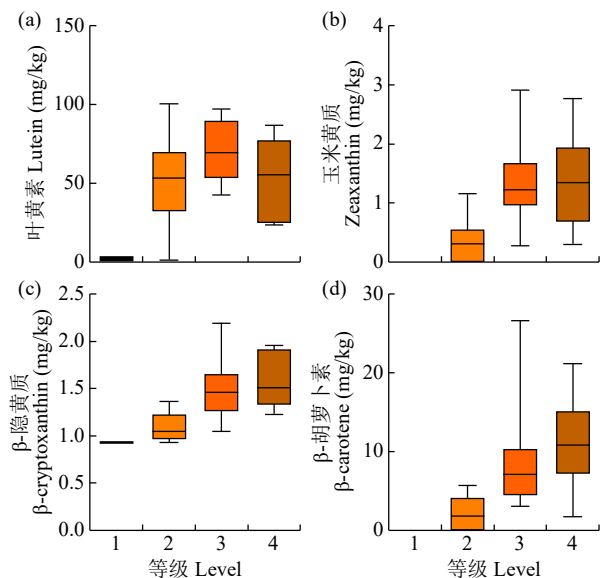


图 2 不同籽粒颜色等级中 4 种类胡萝卜素含量
Fig.2 Carotenoid content of four groups
in different seed color grades

差别。

玉米自交系中的叶黄素平均含量远大于玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素的平均含量，其在等级 3 的含量最高，为 71.05mg/kg，依次是等级 4 和等级 2，分别为 54.76 和 50.53mg/kg，含量最低的是等级 1，为 1.69mg/kg。玉米黄质中等级 4 的含量最高，为 1.35 mg/kg，其次为等级 3（1.31mg/kg）和等级 2（0.37mg/kg），等级 1 未检出。β-隐黄质中等级 1、等级 2 与等级 3、等级 4 间有显著差异（表 5），等级 4 和等级 3 中β-隐黄质含量较高，等级 1 和等级 2 含量较低，等级 4（1.56mg/kg）中β-隐黄质含量大约是等级 1（0.94mg/kg）的 1.7 倍。另外玉米籽粒中β-胡萝卜素含量较高的是等级 4（10.89mg/kg），而在等级 1 中没有检测到β-胡萝卜素（表 4）。

表 5 不同颜色等级中叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素的含量分析
Table 5 Analysis of lutein, zeaxanthin, β-cryptoxanthin and β-carotene contents in different color grades mg/kg

等级 Level	叶黄素 Lutein	玉米黄质 Zeaxanthin	β-隐黄质β-cryptoxanthin	β-胡萝卜素β-carotene
1	1.69±0.76a	nd	0.94±0.00a	nd
2	50.53±5.44b	0.37±0.08a	1.10±0.03a	2.12±0.40a
3	71.05±3.62b	1.31±0.12b	1.51±0.06b	8.71±1.24b
4	54.76±9.02b	1.35±0.32b	1.56±0.11b	10.89±0.77b
平均值 Average	56.32	0.85	1.31	5.75
变异系数 Coefficient of variation (%)	49.46	87.06	25.19	103.65
F 值 F-value	12.291	17.662	17.238	12.767
标准差 Standard deviation	27.86	0.74	0.33	5.96

nd 表示未检出。玉米自交系不同等级类胡萝卜素成分含量间标有不同小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ），下同
nd means not detected. Different levels of carotenoid content in maize inbred lines with different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$), the same below

2.4 R、G、B 和 Gray 值与类胡萝卜素含量的相关性分析

对 60 份玉米自交系中 R、G、B、Gray 值与类胡萝卜素含量进行相关性分析，如表 6 所示，R、

G、B、Gray 值间和类胡萝卜素之间均具有极显著正相关性；R、G、B、Gray 值与叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质、β-胡萝卜素间具有极显著负相关性，即类胡萝卜素含量越高，红度、绿度、蓝度和灰度

表 6 R、G、B 和 Gray 值与类胡萝卜素含量间的相关性分析
Table 6 Correlation analysis between R, G, B, and Gray values and carotenoid content

项目 Item	R	G	B	Gray	叶黄素 Lutein	玉米黄质 Zeaxanthin	β-隐黄质 β-cryptoxanthin	β-胡萝卜素 β-carotene
R	1.000							
G	0.912**	1.000						
B	0.408**	0.596**	1.000					
Gray	0.939**	0.992**	0.632**	1.000				
叶黄素 Lutein	-0.256**	-0.385**	-0.619**	-0.402**	1.000			
玉米黄质 Zeaxanthin	-0.370**	-0.520**	-0.416**	-0.498**	0.505**	1.000		
β-隐黄质 β-cryptoxanthin	-0.506**	-0.598**	-0.421**	-0.589**	0.452**	0.815**	1.000	
β-胡萝卜素 β-carotene	-0.455**	-0.532**	-0.331**	-0.520**	0.343**	0.582**	0.830**	1.000

“**” 表示极显著相关（ $P < 0.01$ ）
“**” indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$)

值越低。总体而言，R、G、B 和 Gray 值之间，G 与 Gray 值的正相关性最高，达 0.992，其次是 R 值与 Gray 和 G 值，正相关性分别达到 0.939 和 0.912，R 与 B 值正相关性较低，为 0.408；类胡萝卜素含量之间，β-隐黄质和β-胡萝卜素相关性较高，达 0.830，其次是玉米黄质和β-隐黄质，达 0.815，而叶黄素与β-胡萝卜素关联性较低，为 0.343；叶黄素与 B 值负相关性较高，达-0.619，而叶黄素与 R 值负相关性则较低，为-0.593。

2.5 玉米自交系类胡萝卜素含量的聚类分析

根据类胡萝卜素含量，采用系统聚类法，用欧式距离可变类平均法对 60 个品种进行聚类分

析，60 份玉米自交系按籽粒中类胡萝卜素含量差异可分为 5 大类，其中编号 C1~C8 聚为一类；C9~C34、C36~C46、C48、C49、C52~54、C56、C58 和 C60 聚为一类；C59 单独聚为一类；C50、C51 和 C57 聚为一类；C35、C55 和 C47 聚为一类。

在 5 个类群中，第 5 类的叶黄素、玉米黄质和β-隐黄质含量都是最高的，属于高 V_A 的自交系，第 1 类叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素的含量都最低，β-隐黄质和玉米黄质含量在 5 个类群中的平均值较低。第 2 类包含了多个自交系，属于中富含类胡萝卜素的自交系（表 7）。

表 7 不同类群间类胡萝卜素含量的分析
Table 7 Analysis between carotenoid contents among different groups

类群 Group	叶黄素 Lutein	玉米黄质 Zeaxanthin	β-隐黄质 β-cryptoxanthin	β-胡萝卜素 β-carotene
1	3.94±1.30	nd	0.94±0.00	nd
2	63.68±2.94	0.83±0.08	1.28±0.03	4.76±0.46
3	24.50±0.00	0.68±0.00	1.32±0.00	15.04±0.00
4	75.44±6.06	1.62±0.22	1.76±0.16	12.41±5.30
5	85.93±4.76	2.82±0.04	2.02±0.06	14.96±3.22
平均值 Average	56.76	0.86	1.30	5.19
变异系数 Coefficient of variation (%)	49.52	86.05	23.08	94.03
F 值 F-value	22.87	19.28	20.05	16.29
标准差 Standard deviation	28.11	0.74	0.30	4.88

3 讨论

筛选高含量类胡萝卜素玉米是十分关键的，但这需要一种快速、准确、操作简便的分析测定方法。与其他检测方法相比，高效液相色谱法具有高效性、精确性和显著性等优势，已成为化学分析中主要分离方法^[26]。本试验采用高效液相色谱法测定玉米类胡萝卜素中的叶黄素、玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素的浓度，结果发现玉米籽粒中类胡萝卜素各组分间含量差异显著，与 Baseggio 等^[27]和周毅等^[28]研究结果一致。Hwang 等^[29]采用紫外分光光度计法检测白色和橙色玉米类胡萝卜素含量，结果表明类胡萝卜素的组成及其浓度是影响籽粒色泽的主要原因。Hu 等^[30]通过高效液相色谱法测定不同玉米籽粒颜色，结果表明，黄色、橙黄色和黑色玉米中有相对高含量的类胡萝卜素，而白色玉米最低。类胡萝卜素组成成分分析表明，叶黄素被确定是玉米中主要的类胡萝卜素，并且紫黑色玉米类胡萝卜素含量总体最高，这与 Hu 等^[31]和 O’Hare 等^[32]

的研究结果类似。本试验以 60 份玉米自交系为材料，运用高效液相色谱技术对各种玉米自交系的类胡萝卜素组成成分进行分析测定，探究玉米籽粒颜色与类胡萝卜素含量的关系，结果显示，类胡萝卜素含量占比最高的是叶黄素、β-胡萝卜素和玉米黄质，其次是β-隐黄质。同时发现类胡萝卜素各组分间含量差异影响籽粒颜色。

4 结论

采用高效液相色谱检测法，对 60 份玉米自交系籽粒中类胡萝卜素含量进行测定，结果显示各自交系中叶黄素含量最高，是类胡萝卜素的主要成分，其次是β-胡萝卜素、玉米黄质和β-隐黄质。其中，4 种类胡萝卜素含量间均有显著性差异，玉米黄质、β-隐黄质和β-胡萝卜素含量随着籽粒颜色等级的增加而增加，叶黄素含量呈先增加后降低的变化趋势。籽粒中类胡萝卜素含量与籽粒颜色相关指标相关性分析显示，4 种主要类胡萝卜素含量与 R、G、B、Gray 值均呈极显著负相关，而 4 种主要类

胡萝卜素组分间呈极显著正相关，R、G、B 和 Gray 值间也呈极显著正相关。本研究结果表明，随着颜色等级的增长，类胡萝卜素含量也随之增长，且在等级 3 时达最高，其次是等级 4，因此籽粒颜色可用作判断总类胡萝卜素含量的依据，可为培育高富集营养玉米品种提供直观有效的方法。

参考文献

- [1] Nuss E T, Tanumihardjo S A. Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9(4): 417-436.
- [2] Takaichi S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Marine Drugs*, 2011, 9(6): 1101-1118.
- [3] 冯发强, 王国华, 王青峰, 等. 甜玉米类胡萝卜素合成关键基因 *PSY1*、*LCYE* 和 *CrtRB1* 的功能分析. *华南农业大学学报*, 2015, 36(5): 36-42.
- [4] 肖亚冬, 宋江峰, 李大婧, 等. 甜玉米汁中类胡萝卜素热降解与其挥发性成分的相关性分析. *食品科学*, 2018, 39(8): 27-32.
- [5] Lux P E, Schneider J, Müller F, et al. Location and variety but not phosphate starter fertilization influence the profiles of fatty acids, carotenoids, and tocopherols in kernels of modern corn (*Zea mays* L.) hybrids cultivated in Germany. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(9): 2845-2854.
- [6] Muzhingi T, Yeum K J, Russell R M, et al. Determination of carotenoids in yellow maize, the effects of saponification and food preparations. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 2008, 78(3): 112-120.
- [7] Li J, Xie J, Yu J, et al. Reversed-phase high-performance liquid chromatography for the quantification and optimization for extracting 10 kinds of carotenoids in pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(38): 8475-8488.
- [8] Osterrothová K, Culka A, Němečková K, et al. Analyzing carotenoids of snow algae by raman microspectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 212: 262-271.
- [9] Bijttebier S, D'Hondt E, Noten B, et al. Ultra high performance liquid chromatography versus high performance liquid chromatography: stationary phase selectivity for generic carotenoid screening. *Journal of Chromatography A*, 2014, 1332: 46-56.
- [10] Végvári G, Jocsák I, Kappel N, et al. Carotenoid quantification of *Cucurbita* spp. by spectrophotometry, high-performance liquid chromatography and photoacoustics. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 2019, 18(2): 143-152.
- [11] Donato P, Inferrera V, Sciarrone D, et al. Supercritical fluid chromatography for lipid analysis in foodstuffs. *Journal of Separation Science*, 2017, 40(1): 361-382.
- [12] Andreeva A, Apostolova I, Velitchkova M. Temperature dependence of resonance Raman spectra of carotenoids. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 78(4): 1261-1265.
- [13] Girme A, Pawar S, Ghule C, et al. Bioanalytical method development and validation study of neuroprotective extract of kashmiri saffron using ultra-fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UFLC-MS/MS): in vivo pharmacokinetics of apocarotenoids and carotenoids. *Molecules*, 2021, 26(6): 1815.
- [14] 王伟杰, 徐昌杰. 天然类胡萝卜素生物合成与生物技术应用. *细胞生物学杂志*, 2006, 28(6): 839-843.
- [15] 李大婧, 肖亚冬, 何美娟, 等. 不同热处理过程中鲜食甜玉米类胡萝卜素含量变化研究. *食品科学*, 2015, 36(23): 78-82.
- [16] Scott C E, Eldridge A L. Comparison of carotenoid content in fresh, frozen and canned corn. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005, 18(6): 551-559.
- [17] Rapp L M, Maple S S, Choi J H. Lutein and zeaxanthin concentrations in rod outer segment membranes from perifoveal and peripheral human retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2000, 41(5): 1200-1209.
- [18] 姜立, 朱长甫, 于婷婷, 等. 类胡萝卜素的研究进展. *生物化工*, 2020, 6(6): 136-139.
- [19] 李福枝, 刘飞, 曾晓希, 等. 天然类胡萝卜素的研究进展. *食品工业科技*, 2007(9): 227-232.
- [20] 陈洁琼, 宋江峰, 何美娟, 等. 鲜食玉米籽粒中主要类胡萝卜素鉴定与含量分析. *食品科学*, 2015, 36(18): 108-113.
- [21] 章园, 宋江峰, 何美娟, 等. 黄玉米籽粒发育过程中类胡萝卜素与色泽的变化. *食品科学*, 2015, 36(19): 77-82.
- [22] 严华, 别玮, 崔风云, 等. 高效液相色谱法分析沙棘中类胡萝卜素的含量. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(11): 4459-4466.
- [23] 郭艳, 魏文婧, 刘世红, 等. 甘蓝黄花和白花着色过程中类胡萝卜素代谢分析. *分子植物育种* (2022-03-18) [2022-04-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220317.1614.018.html>.
- [24] 刘志斋, 吴迅, 刘海利, 等. 基于 40 个核心 SSR 标记揭示的 820 份中国玉米重要自交系的遗传多样性与群体结构. *中国农业科学*, 2012, 45(11): 2107-2138.
- [25] Anne C, Kurilich, John A. Juvik Simultaneous quantification of carotenoids and tocopherols in corn kernel extracts by HPLC. *Journal of Liquid Chromatography Related Technologies*, 1999, 22(19): 2925-2934.
- [26] 黄德海. 高效液相色谱法在食品安全检验中的应用. *食品安全导刊*, 2021(25): 154-155.
- [27] Baseggio M, Murray M, Magallanes-Lundback M, et al. Natural variation for carotenoids in fresh kernels is controlled by uncommon variants in sweet corn. *Plant Genome*, 2020, 13(1): e20008.
- [28] 周毅, 付志远, 李青, 等. 高油和普通玉米自交系类胡萝卜素和生育酚含量的比较分析. *作物学报*, 2009, 35(11): 2073-2084.
- [29] Hwang T, Ndolo V U, Katundu M, et al. Provitamin A potential of landrace orange maize variety (*Zea mays* L.) grown in different geographical locations of central Malawi. *Food Chemistry*, 2016, 196: 1315-1324.
- [30] Hu Q P, Xu J G. Profiles of carotenoids, anthocyanins, phenolics, and antioxidant activity of selected color waxy corn grains during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(5): 2026-2033.
- [31] Hu X, Liu J, Li W, et al. Biosynthesis and accumulation of multi-vitamins in black sweet corn (*Zea mays* L.) during kernel development. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(14): 5230-5238.
- [32] O'Hare T J, Fanning K J, Martin I F. Zeaxanthin biofortification of sweet-corn and factors affecting zeaxanthin accumulation and colour change. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2015, 572: 184-187.

Analysis of Carotenoid Content in Maize Inbred Lines with Different Color Grains

Zhu Hang^{1,2}, Cui Fangqing^{2,3}, Lu Chuanli², Chen Weiwei², Li Xuhui²,
Lu Siqi^{2,3}, Zhang Xiangbo², Zhao Hua⁴, Qi Yongwen^{2,3}

(¹College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei, China; ²Institute of Nanfan & Seed Industry, Guangdong Academy of Sciences, Guangzhou 510316, Guangdong, China; ³College of Agriculture & Biology, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510100, Guangdong, China; ⁴Guangzhou National Modern Agricultural Industry Science and Technology Innovation Center, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract The contents of four carotenoids including lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin and β -carotene in grains of 60 maize inbred lines were detected by high performance liquid chromatography. The results showed that the average contents of lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin and β -carotene were 56.32, 0.85, 1.31 and 5.75mg/kg, respectively. The 60 maize inbred lines could be classified into four grades according to the grain color from light to dark. The darker the grain color, the higher the carotene content. The correlation analysis of carotenoid contents in 60 maize inbred lines showed that there were extremely significant positive correlations between R, G, B and Gray values ($P < 0.01$), and the correlation coefficients were 0.992 (between G and Gray) and 0.939 (between R and Gray), respectively. There were extremely significant positive correlations among the contents of four carotenoids, and the correlation coefficients were 0.830 (between β -cryptoxanthin and β -carotene), 0.815 (between β -cryptoxanthin and zeaxanthin) respectively. Cluster analysis was performed according to carotenoid content and the 60 maize inbred lines were divided into five categories. Among them, the first category had the lowest carotenoid content, the second category riched in carotenoids, and the fifth category riched in vitamin A. It was concluded that the types and contents of carotenoids were important factors affecting the color of maize grains, and the conclusion provided a basis for selecting maize with high nutritional value and rich in cryptoxanthin.

Key words Maize; Carotenoid; High performance liquid chromatography