

Über die Carotinoide der Blütenblätter von *Oenothera*

I. Qualitative und quantitative Untersuchungen bei normalgelben, *sulfurea*- und *vetaurea*-Blüten

PETER CHROMETZKA

Botanisches Institut der Universität des Saarlandes, Saarbrücken (BRD)

Studies on the Carotenoids in Petals of *Oenothera*

I. Qualitative und Quantitative Determinations in Standard Yellow, *sulfurea* and *vetaurea* Flowers

Summary. 1. The carotenoids in the flowers of three color types of *Oenothera*: yellow, sulfur and old-gold (*vetaurea*) were investigated, the latter for the first time. — 2. In yellow and sulfur we found eight carotenoids and β -carotene, in old-gold eight carotenoids and four carotenes. The three additional carotenes of old-gold are: ζ -carotene, lycopene and traces of γ -carotene. — 3. The characteristic carotenoids of *Oenothera* are 5,6-diepoxy- β -carotene and lutein-5,6-epoxide. — 4. The reddish-yellow color of old-gold is due to the large amount of lycopene. — 5. The first unequivocal evidence for presence of chrysanthemum maxanthin in *Oenothera* was obtained.

Die Carotinoide in den Blütenblättern von *Oenothera* erreichen ihre maximale Konzentration im öffnungsbereiten Zustand der Blüten (Schötz 1962), um nach dem Öffnen (länger als 12 Stunden blühen sie selten) rasch wieder abzusinken. Pigmentanalytische Untersuchungen an Blütenblättern von *Oenothera* durch Schötz (1962) sowie Schötz u. Gelius (1963) ergaben, daß in den normalgelben Blüten und bei *sulfurea* (schwefelgelb) β -Carotin, Lutein, Violaxanthin, Luteinepoxid, Neoxanthin und Zeaxanthin vorkommen. Durch die Weiterentwicklung chromatographischer Methoden — insbesondere der Dünnschichtchromatographie — gelang es u. a. Hager u. Meyer-Bertenrath (1966 und 1967), gegenüber der Papierchromatographie verfeinerte Methoden zu entwickeln, mit deren Hilfe wir die Carotinoide in den Blütenblättern von *Oenothera* erneut untersuchen.

Die Untersuchungen wurden vor allem auf die seit Shull (1921) bekannte Mutante „altgold“ = *vetaurea* ausgedehnt. Diese rezessive Mutation aus der *Oe. lamarckiana* mit ihren rötlichgelben Petalen wurde in verschiedene Genome eingekreuzt. Über das Verhalten dieses Gens beim Einkreuzen in einzelne *Oenotheren*-komplexe soll an anderer Stelle berichtet werden.

Material und Methode

Das zur Verfügung stehende *Oenotheren*-material geht auf die Kulturen von Prof. Renner in München zurück. Seit 1966 kultivieren wir *Oenotheren* im Botanischen Garten der Universität in Saarbrücken.

Die Extraktion (mit anschließender Verseifung) und die quantitative Bestimmung der Carotinoide erfolgte nach den bei Hager u. Meyer-Bertenrath (1966 und 1967) beschriebenen Methoden, wobei folgende Verfahren angewendet wurden:

a) Vergleich der auf der Adsorptionschromatographischen Platte (Dünnschicht B, Hager u. Mitarb. 1966) getrennten Carotinoide mit Bezugssubstanzen aus verschiedenen Pflanzen (s. Tabelle 1).

b) Messung der Absorptionskurven im selbstregistrierenden Spektralphotometer Modell Beckman DB.

c) Säurekatalytische Isomerisierung von Epoxiden.

d) Isomerisierung mit Jod.

Um zu allgemeinen Aussagen über die drei Blütenfarben zu kommen (Normalwerte), wurden jeweils 5 Arten bzw. Kreuzungen je dreimal untersucht und die Einzelwerte zu einem Mittelwert (Normalwert) zusammengefaßt; der in der Tabelle 1 angegebene Normalwert stellt also ein Mittel aus 15 Untersuchungen dar.

Für die Analysen wurden die öffnungsbereiten Blüten folgender Arten und Kreuzungen verwendet:

a) normalgelb	b) <i>sulfurea</i>	c) <i>vetaurea</i>
<i>Oe. lamarckiana</i>	<i>suaveolens</i>	<i>lamarckiana</i>
<i>suaveolens</i>	<i>biennis</i>	<i>hookerilaeta</i>
<i>biennis</i>	<i>laetiflora</i>	<i>hookerivelutina</i>
<i>Z-amphivelutina</i>	<i>rubiflora</i>	<i>flavivelutina</i>
<i>rubricalyx</i>	<i>velutirubata</i>	<i>rubivelutina</i>
<i>perangusta</i>		

Die bei der Extraktion miterfaßten mengenmäßig stark vertretenen Lipide (Tabelle 2) wurden nach der Verseifung mit 6% KOH durch Filtration des Acetonextraktes bei -28°C in der Gefriertruhe größtenteils entfernt, da sie bei der Adsorptionschromatographie mit der Front wandern, die Carotine hier überlagern und allgemein die Trennung stören.

Ergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Besprechung der Ergebnisse

Der höchste Gesamtgehalt an Carotinoiden mit 4,98 mg je g Frischgewicht liegt bei den normalgelben

Tabelle 1. Normalwerte des Gehaltes an Carotinoiden in den Blütenblättern der *Oenotheren*: normalgelb, *sulfurea* und *vetaurea*

Carotinoide	R_f -Wert	normal- gelb	<i>sulfurea</i>	<i>vetaurea</i>	Vergleichs- substanz aus:	λ max. in Äthanol (nm)
β -Carotin	0,74*	7,3	7,4	8,2	<i>Spinacia</i> (Blatt)	452 478
ζ -Carotin	0,56*	—	—	7,1	Tomate (Frucht)	379 400 426
γ -Carotin	0,35*	—	—	Spuren	Tomate (Frucht)	438 463 491
Lycopin	0,20*	—	—	17,9	Tomate (Frucht)	449 471 500
β -Carotindiepoxid	0,70	24,2	26,2	15,0	<i>Hieracium</i> <i>aurantiacum</i>	418 441 470 (424 448 478)
Luteinepoxid	0,51	35,4	36,1	18,1	<i>Spinacia</i>	416 440 469
Violaxanthin	0,40	9,1	8,8	8,0	<i>Spinacia</i>	417 441 471
Lutein	0,34	4,2	3,0	3,3	<i>Spinacia</i>	421 446 474
Neoxanthin Neo A	0,28	7,3	8,1	10,4	<i>Spinacia</i>	418 440 470
Neoxanthin	0,22	8,0	7,2	6,2	<i>Spinacia</i>	415 438 467
Zeaxanthin	0,13	3,6	2,0	5,0	<i>Spinacia</i>	~425 451 479
Chrysanthema- xanthin	0,08	0,9	1,2	0,8	<i>Hieracium</i> <i>aurantiacum</i> (Blüte)	~398 421 448 (~405 429 457)
Gesamt- carotinoide %		100,0	100,0	100,0		
= mg/g Frisch- gewicht		4,98	4,64	4,45		
<i>Laufmittelgemische:</i>						
I) Benzin (100—140 °C) 50						
(Angaben in ml) Aceton 50						
(Hager et al. 1966) Chloroform 40						
*II) Benzin (100—140 °C) 40						
Benzol 10						
Aceton 1						

Die in () angegebenen Werte λ max. sind in Chloroform gemessen. Als Extinktionskoeffizienten $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ wurden die bei Goodwin (1955) und Hager u. Meyer-Bertenrath (1966) angegebenen Werte verwendet.

Blüten vor; doch liegen diese Werte bei den *sulfurea*- und *vetaurea*-Mutanten nur wenig darunter.

Das größte Artenspektrum an Carotinen und Carotinoiden dagegen findet sich in den Blüten von *vetaurea*. Hier kommt neben β -Carotin auch ζ -Carotin und in Spuren γ -Carotin vor. Der Rotanteil in den *vetaurea*-Blüten aber wird durch das mengenmäßig stark vertretene Lycopin bedingt. Lycopin überlagert im Laufmittelgemisch I das nur spärlich vorhandene Chrysanthemaxanthin (beide haben in diesem Gemisch einen R_f -Wert von 0,08); im Gemisch II dagegen läßt es sich klar isolieren. Den Hauptanteil der Carotinoide bei allen drei Blütenfarben stellen das β -Carotindiepoxid und das Lutein-5,6-epoxid.

Hinsichtlich der Mengenverhältnisse bei den einzelnen Blütenfarben fällt auf, daß die beiden Hauptcarotinoide bei *vetaurea* in wesentlich geringerer Konzentration vorkommen; dafür enthält *vetaurea* mehr Zeaxanthin. Chrysanthemaxanthin konnte zum erstenmal eindeutig für *Oenothera* bestimmt werden. Als Vergleichssubstanz isolierten wir es aus den Blütenblättern von *Hieracium aurantiacum*, wo es als eines der Hauptcarotinoide vorliegt (Valadon u. Mummery 1967).

Schötz u. Gelius (1963) vermuten zwar, daß die im Papierchromatogramm auftretenden Zonen N unter anderem Chrysanthemaxanthin enthalten könnten, doch gelingt der Nachweis mittels Papierchromatographie nicht. Dieses Carotinoid ist auch nur in so geringer Menge vorhanden, daß es papierchromatographisch wohl nur schwerlich zu identifizieren ist. Die bei Schötz (1962) und Schötz u. Gelius (1963) im Papierchromatogramm auftretenden Zonen N_1 und N_2 bzw. N_α und N_β dürften zum Teil wenigstens mit β -Carotindiepoxid identisch sein.

Das nur in Spuren bei *vetaurea* vorkommende γ -Carotin konnte lediglich auf Grund des R_f -Wertes (Laufmittelgemisch II) und der Absorptionsmaxima in Äthanol bestimmt werden. Als Vergleichssubstanz wurde es aus der Frucht der Tomate extrahiert. Das gemeinsame Vorkommen von ζ -Carotin und Lycopin bei *vetaurea* soll in einer späteren Arbeit näher untersucht werden.

Den höchsten Anteil an Lipiden fanden wir bei den normalgelben Blüten, den geringsten bei der *vetaurea*-Mutante. Der höchste Chlorophyllgehalt dagegen läßt sich bei der *sulfurea*-Blüte nachweisen (Tabelle 2).

Tabelle 2. Gewichtsmäßige Anteile an Lipiden und Chlorophyllen im Acetonextrakt der *Oenotheren*blüten

	normalgelb	sulfurea	vetaurea
Lipide	0,072	0,048	0,017
Chlorophylle	0,050	0,068	0,017

Angaben in mg/g Frischgewicht

Durchschnittswerte aus jeweils 15 Einzelbestimmungen.

Zusammenfassung

1. Die drei Blütenfarben gelb, *sulfurea* und erstmals *vetaurea* von *Oenothera* wurden auf ihre Carotinoide hin untersucht.

2. Bei gelb und *sulfurea* wurden 8 Carotinoide und β -Carotin gefunden, aus *vetaurea* isolierten wir 8 Carotinoide und 4 Carotine. Die 3 bei *vetaurea* zusätzlich gefundenen Carotine sind: ζ -Carotin, Lycopin und in Spuren γ -Carotin.

3. Hauptcarotinoide bei *Oenothera* sind: β -Carotindiepoxid und Luteinepoxid.

4. Die rötlichgelbe Farbe der *vetaurea*-Blüten wird durch den hohen Anteil an Lycopin bedingt.

5. Chrysanthemaxanthin wurde erstmals eindeutig für *Oenothera* nachgewiesen.

Herrn Prof. Dr. A. Hager, Münster, danke ich für wertvollen Rat.

Literatur

1. Goodwin, T. W.: Carotenoids. In: Paech, K., Tracey, M. V.: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. III, S. 272–311. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — 2. Hager, A., Meyer-Bertenrath, T.: Die Isolierung und quantitative Bestimmung der Carotinoide und Chlorophylle von Blättern, Algen und isolierten Chloroplasten mit Hilfe dünn-schichtchromatographischer Methoden. *Planta (Berl.)* **69**, 198–217 (1966). — 3. Hager, A., Meyer-Bertenrath, T.: Die Identifizierung der an Dünnschichten getrennten Carotinoide grüner Blätter und Algen. *Planta (Berl.)* **76**, 149–168 (1967). — 4. Schötz, F.: Pigmentanalytische Untersuchungen an *Oenothera*. I. Vorversuche und Analyse der Blätter und Blüten von *Oenothera suaveolens* Desf., Mutante „Weißherz“. *Planta (Berl.)* **58**, 411–434 (1962). — 5. Schötz, F., Gelius, Lisa: Pigmentanalytische Untersuchungen an *Oenotheren*blüten. Zul.-arbeit z. Staatsexamen München 1963. — 6. Shull, G. H.: Three new mutations in *Oenothera lamarckiana*. *J. Heredity* **12**, 354–363 (1921). — 7. Valadon, L. R. G., Mummery, Rosemary S.: Carotenoids of certain compositae flowers. *Phytochemistry* **6**, 983–988 (1967).

Eingegangen 25. Februar 1971

Angenommen durch H. Stubbe

Dr. Peter Chrometzka
Botanisches Institut
der Universität des Saarlandes
D-66 Saarbrücken 15 (BRD)