

I. Elmadfa
D. Majchrzak

Carotinoide und Vitamin A in Fischproben

Carotenoids and vitamin A in fish

Zusammenfassung Es wurden sieben handelsübliche Lachs- und sechs Forellensorten (Lachsforelle und Forelle) untersucht. Die Bestimmung von Vitamin A und den zwei für die Muskelpigmentierung wichtigen Carotinoiden, Astaxanthin und Canthaxanthin, erfolgte mit der RP-HPLC Methode. Die Vitamin-A-Gehalte in rohen Lachsproben betrugen 16–19 µg/100 g und in geräucherten 9–19 µg/100 g; die Werte für Lachsforelle (roh) und Forelle (roh) erreichten 14–16 µg und 7–9 µg/100 g. Die Konzentrationen des für die Pigmentierung wichtigsten Carotinoids, Astaxanthin, bewegten sich in den Lachsproben im Bereich von 310 µg/

100 g bis 465 µg/100 g. Lachsforellen wiesen Astaxanthin-Gehalte zwischen 90–536 µg/100 g, Forellen dagegen von 67–85 µg/100 g auf. Die Canthaxanthin-Gehalte waren in den untersuchten Fischarten sehr unterschiedlich. Die höchsten Konzentrationen betrugen in rohen Lachsforellen 113–226 µg/100 g und in irischem Räucherlachs und Stremellachs 145–169 µg/100 g. In manchen, z.B. den rohen Lachsproben und in den Forellen kam Canthaxanthin nur in geringen Konzentrationen vor, bzw. war nicht nachweisbar. Die Summe von Astaxanthin und Canthaxanthin betrug für Lachse 419–524 µg/100 g, Lachsforelle 316–701 µg/100 g und Forelle 72–91 µg/100 g.

Summary Seven commercial salmon and six trout samples were investigated. Retinol and the carotenoids astaxanthin and canthaxanthin important for pigmentation of the muscle were determined by RP-HPLC. Vitamin A concentrations of raw salmon samples were 16–19 µg/100 g, of smoked salmon samples 9–19 µg/100 g; retinol values of salmon

trout (raw) and trout (raw) reached 14–16 µg/100 g and 7–9 µg/100 g. Concentrations of astaxanthin the important carotenoid of pigmentation, ranged in samples of salmon from 310–465 µg/100 g. Samples of salmon trout showed astaxanthin values between 90 and 536 µg/100 g, trout samples only 67–85 µg/100 g. Concentrations of canthaxanthin were different in the examined samples and were not detectable in all samples. Highest values of canthaxanthin were found in salmon trout samples (113–226 µg/100 g), Irish smoked salmon and stremel-salmon (145–169 µg/100 g). Raw samples of salmon and of trout showed only low concentrations of canthaxanthin. Astaxanthin and canthaxanthin together reached values of 419–524 µg/100 g for salmon, 316–701 µg/100 g for salmon trout, and 72–91 µg/100 g for trout samples.

Schlüsselwörter Fisch – Astaxanthin – Canthaxanthin – Retinol – HPLC

Key words Fish – astaxanthin – canthaxanthin – retinol – HPLC

Eingegangen: 26. September 1997
Akzeptiert: 10. Dezember 1997

Prof. Dr. I. Elmadfa (✉) · Dr. D. Majchrzak
Institut für Ernährungswissenschaften
Althanstraße 14
A-1090 Wien
Austria

Einleitung

Carotinoide können nur von Pflanzen und Mikroorganismen synthetisiert werden (8). Der tierische Organismus ist zu dieser Synthese nicht fähig. So können Carotinoide

den Tieren u.a. mit dem Futter zugeführt werden. Die Absorption und der Metabolismus von Carotinoiden werden von deren Struktur geprägt (13). Carotinoide haben auch verschiedene Funktionen. Darunter ist die wichtigste die Umwandlung zum Vitamin A. Zu den Provitamin-A-

Carotinoiden gehören β -Carotin, α -Carotin und β -Cryptoxanthin. Von den nicht Vitamin-A-wirksamen Carotinoiden spielen bei Säugetieren Lycopin, Lutein und Zeaxanthin eine sehr wichtige Rolle als Antioxidantien und sind in Plasma und Gewebe zu finden. Fische können zwei zusätzliche Carotinoide zu Vitamin A metabolisieren, Astaxanthin und Canthaxanthin (8). Diese beiden Oxocarotinoide sind die wichtigsten Carotinoide der Fischernährung und garantieren die orange-rosa Farbe in Salmoniden (5). Freies Astaxanthin ist besser absorbierbar als Canthaxanthin (6, 11, 12) und gibt bei vergleichbarer Konzentration Fischmuskeln (Lachs, Lachsforelle) mehr vom typischen rötlichen Farbton als Canthaxanthin (11). Die zufriedenstellende Pigmentierung von Lachs und Lachsforellen hat fundamentale Bedeutung für die Akzeptanz der Konsumenten (5, 14).

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, Carotinoid-Gehalte verschiedener, auf dem Markt erhältlicher Lachse und Forellensorten zu analysieren. Zusätzlich wurde auch deren Vitamin-A-Gehalt bestimmt.

Material und Methoden

Material und Reagenzien

Als Versuchsmaterial wurden sieben Lachssorten (vier roh und drei geräuchert) aus dem Sortiment der Nordseekette und zwei anderer lokaler Händler (Umar, Gruber) und drei Lachsforellen bzw. Forellen (roh, von lokalen Händlern) analysiert (Herkunft s. Tab. 1). Nach dem Einkauf wurde das ganze Fischfilet homogenisiert, portioniert und bis zur Analyse bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ tiefgefroren.

Die Referenzsubstanzen Astaxanthin und Canthaxanthin wurden dankenswerterweise von Hoffman-La Roche, Basel, zur Verfügung gestellt. All-trans Retinol wurde von Sigma bezogen.

Probenaufarbeitung

Die Gewinnung der lipidlöslichen Phase aus den Muskelhomogenaten erfolgte nach der Methode von Folch et al. (2). Zu der aufgetauten Probe (ca. 5 g) wurde das Extraktionsmittel (Chloroform und Methanol 2:1 v/v) im Verhältnis 30 ml auf 1 g Einwaage zugesetzt. Nach kräftigem Schütteln (30 min) erfolgte die Extraktion (2h in einem kühlen, dunklen Raum). Die Zugabe von 0,05-molarer Calciumchloridlösung zum Extrakt bewirkte nach dem Schütteln die Trennung der Lipidphase von der wässrigen Phase. Nach dem Filtrieren über Natriumsulfat wurde 0,5 bis 1 ml von der Lipid-Phase (abhängig von der Fischart) in ein Schliffreagenzglas überführt, eingengt und mit Stickstoff begast. Dann wurden 5 ml Hexan dazugegeben, wieder abgedampft, begast, anschließend in 150 ml Fließmittel aufgenommen und für die Analyse eingesetzt.

HPLC (High performance liquid Chromatography)

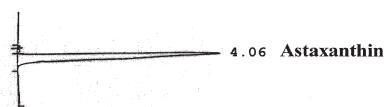
Alle untersuchten Parameter wurden mittels HPLC-Methode bestimmt (9). Bei der angewandten Reversed-Phase (RP)-Chromatography, mit der analytischen Säule LI Chrospher 100RP-18,5 μm , 250x4 mm wurde als mobile Phase eine Mischung von Methanol-Dichlormethan im Verhältnis 85:15 (v/v) eingesetzt. Die Substanzen wurden mittels eines UV/VIS-Detektors bei folgenden Wellenlängen bestimmt: 450 nm für die Carotinoide und 325 nm für all-trans Retinol. Die Identifizierung von Retinol und den Carotinoiden erfolgte über die Retentionszeiten und durch Zugabe der jeweiligen Referenzsubstanz zur Probe (Abb. 1), die Auswertung mittels linearer Regression. Der Intravariationskoeffizient der Methode betrug für Retinol 5,6 %, für Canthaxanthin 3,7 % und für Astaxanthin 3 %. Der Intervariationskoeffizient lag für alle bestimmten Parameter um 5 %.

Ergebnisse und Diskussion

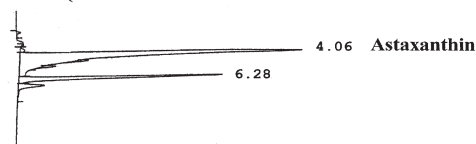
Sämtliche Ergebnisse wurden in der Tabelle 1 dargestellt.

Die Vitamin A-Konzentrationen aller analysierten Lachsproben lagen unter dem von Souci et al. (10) angegebenen Wert von $65\text{ }\mu\text{g}/100\text{ g}$.

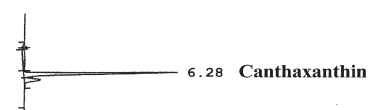
a) Astaxanthinstandard



b) Probe (Stremellachs + Astaxanthinstandard)



c) Canthaxanthinstandard



d) Probe (Stremellachs + Canthaxanthinstandard)

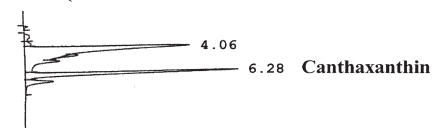


Abb. 1 Qualitative Peak – Identifizierung von Carotinoiden in Fischproben

Tab. 1 Retinol, Astaxanthin und Canthaxanthin in Lachsmuskeln und in Muskeln von Lachsforellen und Forellen ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) (Mittelwerte aus Doppelbestimmungen)

Probenbezeichnung		Retinol	Astaxanthin	Canthaxanthin	Astaxanthin + Canthaxanthin
		$\mu\text{g}/100\text{ g}$	$\mu\text{g}/100\text{ g}$	$\mu\text{g}/100\text{ g}$	$\mu\text{g}/100\text{ g}$
Lachs, roh	Lachssteak ¹	15,8	460	nn**	460
	Lachssteak ²	18,9	437	nn**	437
	Lachsfilet ³	16,1	419	nn**	419
	Gravedlachs ⁴	18,9	465	54	519
Lachs, geräuchert	Stremellachs ⁵	10,7	314	145	459
	Schottischer Räucherlachs ⁶	18,8	310	93	403
	Irischer Räucherlachs ⁷	9,4	355	169	524
Lachsforelle, roh	Probe 1	14,9	536	165	701
	Probe 2	16,1	90	226	316
	Probe 3	14,4	208	113	321
Forelle, roh	Probe 4	7,6	85	6	91
	Probe 5	8,8	63	10	73
	Probe 6	8,9	67	5	72

¹⁻²zwei verschiedene, lokale Fischhändler³Nordsee-Kette⁴Nordsee-Kette, Zuchtlachs, nicht geräuchert, mit Salz und Kräutern gebeizt, kalt gereift⁵Nordsee-Kette, Zuchtlachs, bei 45 °C mit feuchter heißer Luft geräuchert⁶Nordsee-Kette, Zuchtlachs, kalt geräuchert⁷Nordsee-Kette, Wildlachs, kalt geräuchert

Probe 1, 4 – Holzinger*, Probe 2, 5 – Umar*, Probe 3, 6 – Gruber* (lokale Fischhändler)

Lachsproben 1–5, Lachsforellen, Forellen – Herkunft – Norwegen

nn** – nicht nachweisbar (die Nachweisgrenze für die beiden Carotinoide lag um 2 $\mu\text{g}/\text{dl}$, für Retinol um 0,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$)

Die Astaxanthin-Werte waren vergleichbar mit den von Hatlen et al. (6) beschriebenen Konzentrationen in Salmoniden, d.h. 230–290 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ nach 13 Wochen und 520–570 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ nach 25 Wochen bei einer Supplementierung mit 63 mg bis 114 mg Astaxanthin/kg Futter. Diese Gehalte waren aber deutlich höher als in einer anderen Studie (12), in der eine 56-wöchige Supplementierung mit 30, 60 und 90 mg Astaxanthin/kg Futter durchschnittlich 200 μg dieses Carotinoids pro 100 g Muskel brachte. Überlicherweise sollten vermarktungsfähige junge Lachse bei einer Supplementierung von 35–75 mg Astaxanthin/kg Futter ca. 600 μg Pigment/100 g Muskel erreichen (14).

Die Canthaxanthin-Konzentrationen in wildem irischen Lachs und in Stremellachs näherten sich dem Wert 180 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ in der bereits zitierten Studie an (12). Die zwei anderen untersuchten Lachssorten (Graved Lachs

und schottischer Räucherlachs) wiesen aber niedrigere Canthaxanthin-Gehalte auf. In den übrigen Lachsproben wurde Canthaxanthin nicht gefunden. Diese Sorten waren wahrscheinlich nur mit Astaxanthin supplementiert.

In allen untersuchten Forellenproben waren die Vitamin A-Konzentrationen niedriger als der von Souci et al. (10) angegebene Wert von 45 $\mu\text{g}/100\text{ g}$.

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Menge an Astaxanthin in den Lachsforellen wurde mit den Konzentrationen in den Regenbogenforellen verglichen und war kleiner als die Werte anderer Autoren. Foss et al. (3) haben bei Regenbogenforellen nach 10 bis 14-wöchiger Supplementierung mit ca. 100 mg Astaxanthin pro kg Futter Werte um 600–800 μg Pigment/100 g Muskel festgestellt. No et al. (7) wiesen 6 Wochen nach Supplementierung mit 57 mg Astaxanthin/kg Futter ca. 700 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ nach. Bjerkeng et al. (1) haben ca. 2 000 μg

Astaxanthin/100 g bei Supplementierung von 100 mg Carotinoid/kg Futter während 140 Wochen erreicht. Die Astaxanthin-Konzentrationen in den Forellen waren niedriger als in den Lachsforellen. Diese Sorten zeigten auch geringe Canthaxanthin-Gehalte. Die Canthaxanthin-Werte von Lachsforellen näherten sich den Ergebnissen in den Regenbogenforellen von Foss et al. (3) an (170–260 µg/100 g nach entsprechender Supplementierung mit ca. 100 mg Canthaxanthin/kg Futter über 4 und 10 Wochen).

Die Summe der Konzentrationen an Astaxanthin und Canthaxanthin erreichte in Lachsen Werte um 419–524 µg Pigment/100 g, in Lachsforellen 316–700 µg/100 g und in Forellen 72–91 µg/100 g. Foss et al. (4) berichteten von 600–1 070 µg Astaxanthin + Canthaxanthin/100 g Muskel in den Regenbogenforellen nach 10–22-wöchiger Supplementierung mit 30 mg Astaxanthin + 30 mg Canthaxanthin/kg Futter.

Literatur

1. Bjerkeng B, Storebakken T, Liaaen-Jensen S (1992) Pigmentation of rainbow trout from start feeding to sexual maturation. *Aquaculture* 108:333–346
2. Folch J, Less M, Stoane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497–509
3. Foss P, Storebakken T, Schiedt K, Liaaen-Jensen S, Austreng E, Streiff K (1984) Carotenoids in diets for salmonids. I. Pigmentation of rainbow trout with the individual optical isomers of astaxanthin in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture* 41:213–226
4. Foss P, Storebakken T, Austreng E, Liaaen-Jensen S (1987) Carotenoids in diets for salmonids. V. Pigmentation of rainbow trout and sea trout with astaxanthin and astaxanthin dipalmitate in comparison with canthaxanthin. *Aquaculture* 65:293–305
5. Gouveia L, Gomes E, Empis J (1996) Potential use of a microalga (*Chlorella vulgaris*) in the pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Z Lebensm Unters Forsch* 202:75–79
6. Hatlen B, Aas GH, Jorgensen EH, Storebakken T, Goswami UC (1995) Pigmentation of 1, 2 and 3 year old Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) fed two different dietary astaxanthin concentrations. *Aquaculture* 138:303–312
7. No HK, Storebakken T (1991) Pigmentation of rainbow trout with astaxanthin at different water temperatures. *Aquaculture* 97:203–216
8. Olson JA (1989) Provitamin A function of carotenoids: the conversion of beta-carotene into vitamin A. *J Nutr* 119:105–108
9. Sierakowski B, Elmadfa I (1987) Wie verhalten sich Retinol und Tocopherolkonzentrationen im Plasma von Probanden während parenteraler Verabreichung verschiedener Fettemulsionen. *Akt Ernähr-Med* 12:93–96
10. Souci SW, Fachmann W, Kraut H (1986) Food composition and nutrition tables 1986/87. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
11. Storebakken T, No HK (1992) Pigmentation of rainbow trout. *Aquaculture* 100:209–229
12. Storebakken T, Foss P, Schiedt K, Austreng E, Liaaen-Jensen S, Manz U (1987) Carotenoids in diets for salmonids. IV. Pigmentation of Atlantic Salmon with astaxanthin, astaxanthin dipalmitate and canthaxanthin. *Aquaculture* 65:279–292
13. Torrisen OJ, Christiansen R (1995) Requirements for carotenoids in fish diets. *J Appl Ichthyol* 11:225–230
14. Torrisen OJ, Hardy RW, Shearer KD, Scott TM, Stone FE (1990) Effects of dietary canthaxanthin level and lipid level on apparent digestibility coefficients for canthaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 88:351–362