

Presseinformation

Esslingen, 02. November 2009

Analytik von sekundären Pflanzenstoffen (Teil 2) Carotinoide – bunte Vielfalt

Carotinoide sind heutzutage in vielen Lebensmittel enthalten; ob von Natur aus oder als bewusst eingesetzter Zusatzstoff. Jedoch ist die positive Wirkung nicht unumstritten. Weil die Zusammenhänge zwischen positiven und negativen Eigenschaften weiterhin wissenschaftlich diskutiert werden, ist eine dauerhafte intensive Überwachung des Carotin-Gehaltes empfehlenswert.

Keywords: sekundäre Pflanzenstoffe, pflanzliche Aktivstoffe, Pflanzen-inhaltsstoffe, HPLC, Pflanzenextrakt, Haltbarkeit, Stabilitätsprüfung, Rohstoffanalyse, Matrixkompetenz, Qualitätsstandards;

Carotinoide sind die Mitglieder der umfangreichen Klasse von gelben bis roten Farbstoffen aus 8 Isopren-Einheiten, der sogenannten Tetraterpene. Sie kommen in allen gelben und roten Pflanzenteilen vor und sind wichtiger Bestandteil der menschlichen Ernährung.

Der Begriff Carotinoide umfasst eine große Vielzahl von Verbindungen, die zwar alle dasselbe Grundgerüst besitzen, welches jedoch durch funktionelle Gruppen oder Zyklisierung modifiziert sein kann. Die Untergruppe „Carotine“ (Lateinisch „carota“, Karotte) beinhaltet dabei die nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff aufgebauten Mitglieder wie Carotin und Lycopin, während die sauerstoffhaltigen Derivate als Xanthophylle, z. B. Lutein, Zeaxanthin und Cryptoxanthin, bezeichnet werden. Carotinoide sind aufgrund ihrer hohen Zahl an konjugierten Doppelbindungen

entsprechend lipophil und praktisch nicht wasserlöslich. Außerdem bewirkt dieses System neben der intensiven Farbe auch das Vorkommen von cis-trans-Isomeren, was bei gewollter Unterscheidung im Verbindungsnamen angezeigt werden muss.

Die Stellungsisomere α , β , γ und δ spiegeln die Umstände wieder, dass die Strukturen an den beiden Enden des linearen, konjugiert ungesättigten Grundgerüsts zyklisiert oder azyklisiert vorliegen können sowie der möglichen unterschiedlichen Lage der Doppelbindungen.

Durch ihre hohe Reaktivität wird schnell klar, wie die enorme Anzahl verschiedener Carotinoide natürlicher Herkunft zustande kommt. Die bekanntesten Vertreter sind in Abbildung 1 aufgezeigt.

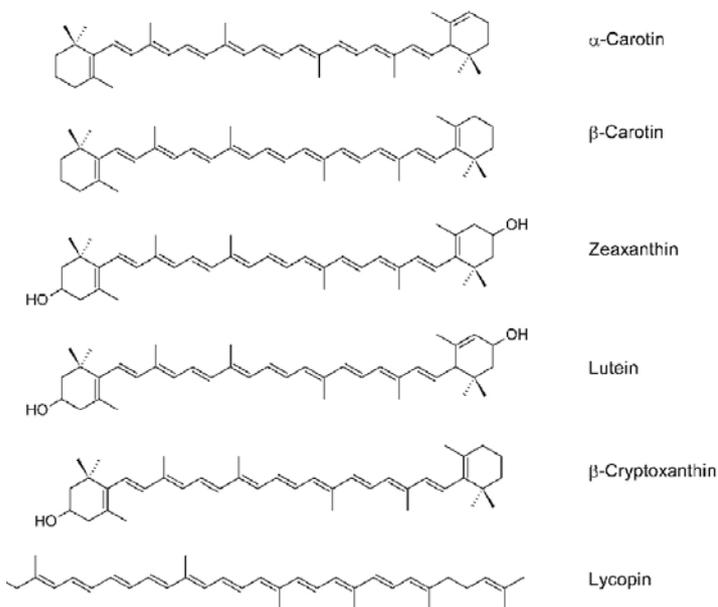


Fig. 1 Die häufigsten pflanzlichen Carotinoide in der Übersicht. Die bicyklischen Carotine enthalten im Gegensatz zu den Xanthophyllen keinen Sauerstoff bzw. Hydroxylgruppen im Molekül. Wichtigster Vertreter der azyklischen Carotine ist das Lycopin, der rote Farbstoff aus Tomaten und Wassermelonen.

Wichtigste Wirkung einiger Carotinoide ist die Provitamin A-Aktivität, d.h., die Möglichkeit, im menschlichen Körper zu Vitamin A bzw. Retinol (Fig. 2) umgewandelt zu werden. Vitamin A wiederum ist für den Sehvorgang sowie für die Haut und den Stoffwechsel von höchster Wichtigkeit. Allerdings besitzen nur manche Carotinoide Provitamin-A-Aktivität, welche in Retinoläquivalenten ausgedrückt wird. Karotten sind eine der Hauptquellen für die bekanntesten Vertreter mit Provitamin A-Aktivität – α - bzw. β -Carotin – mit Carotiningehalten von etwa 5 – 15 mg / 100 g Gemüse.

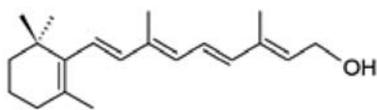


Fig. 2 Retinol (Vitamin A)

Allen gemeinsam ist dagegen die hohe Reaktivität. Carotinoide sind sehr starke Antioxidantien und besitzen eine ausgeprägte Farbigkeit. Carotine und Xanthophylle werden unter den E-Nummern E160 und E161 als Lebensmittelzusatzstoffe für Getränke und Fette sowie als Tierfutterzusatz benutzt.

Aber der Einsatz von β -Carotin in Lebensmitteln ist nicht unumstritten: mehrere Studien kamen zu dem Schluss, dass die Einnahme von hoch dosiertem, isoliertem, β -Carotin als Reinsubstanz in Nahrungsergänzungsmitteln die Gefahr unerwünschter prooxidativer Wirkung bei speziellen Probandenkollektiven (hier: Raucher) möglicherweise erhöhen kann [1 – 3].

Derzeit gibt es keine festgelegte Höchstmenge für den β -Carotiningehalt in Nahrungsmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln in der Europäischen Union. Für Deutschland hat das BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) 2004 jedoch vorgeschlagen, eine maximale Tagesverzehr dosis von 2 mg pro Tag aus Gründen des vorsorgenden Gesundheitsschutzes nicht zu überschreiten. Dies gilt unabhängig von der Quelle des verwendeten β -Carotins.

Diese Empfehlung ist jedoch nicht bindend und für den Verbraucher schwer umzusetzen. Auch wenn genaue Zusammenhänge zwischen den festgestellten positiven und negativen Eigenschaften weiterhin in der wissenschaftlichen Diskussion bleiben, scheint eine intensive Überwachung des β -Carotiningehaltes in Lebensmitteln und rechtlich gleichgestellten Produkten empfehlenswert.

HPLC-Analytik von Carotinoiden

Carotinoide zuverlässig zu analysieren ist keine einfache Aufgabe. Die Anzahl der Analyten sowie deren Reaktivität und dadurch entstehende Reaktionsprodukte sind enorm. Dem Risiko, mit zu harschen Bedingungen während der Probenvorbereitung die Analyten zu modifizieren, zu zerstören oder zu isomerisieren, steht die Gefahr einer Unterbestimmung durch unzureichende Extraktion der Probe gegenüber.

Hier muss unbedingt das Verfahren auf die entsprechende Probenmatrix abgestimmt und validiert werden. Abbildung 3.1 zeigt ein Chromatogramm, in welchem die Carotinoide einer Brokkolisorte analysiert wurden, in Abbildung 3.2 ist eine Probe der Mundschleimhaut einer Testperson als Chromatogramm abgebildet. Die Probenvorbereitung und die Analysenbedingungen sind in den beiden Beispielen völlig verschieden.

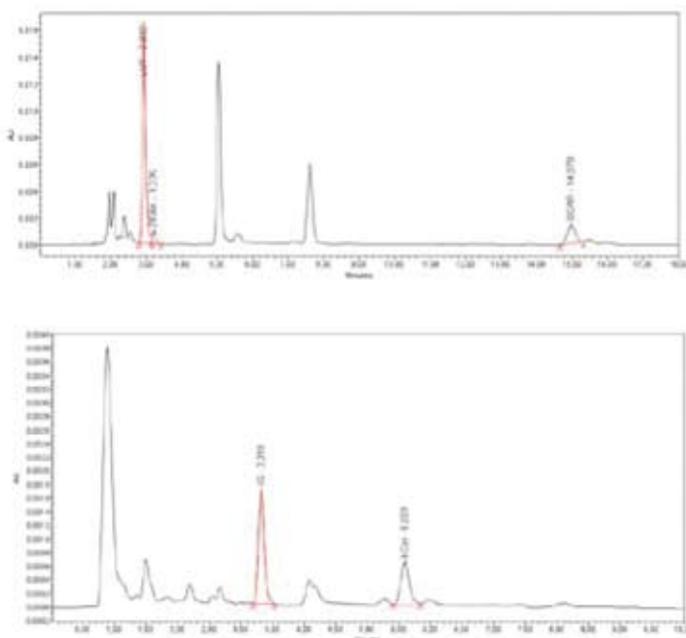


Fig. 3.1 und 3.2 HPLC-Chromatogramm einer Gemüseprobe (Brokkoli). Im Chromatogramm sind Lutein und β -Carotin bestimmt und ausgewertet worden.

Zur Quantifizierung der im Chromatogramm zu sehenden Peaks bedarf es einer vorangegangenen Kalibrierung mit Standards bekannter Reinheit und Konzentration. Bei Carotinoiden ist die geringe Verfügbarkeit von zertifizierten Standards sowie die generell sehr eingeschränkte Stabilität von Lösungen derselben eine Herausforderung für jedes Analytiklabor. Kalibrierstandards müssen messtäglich neu erstellt und kontrolliert werden. Bei BioTeSys werden die Standards aus den reinsten, am Markt verfügbaren Substanzen hergestellt, die Lösungen photometrisch kontrolliert und für die Qualitäts- und Richtigkeitskontrollen verschiedene Lieferanten und/oder Chargen benutzt. Das Vorgehen ist stets das gleiche: nach erfolgter Methodenvalidierung erfolgt die Kalibrierung und die Analyse von Qualitätskontrollen, welche im Falle von immer wiederkehrenden Analysen in Regelkarten erfasst werden. In allen anderen Fällen werden zumindest die Richtigkeit, Präzision, Wiederfindung sowie Nachweis- und Bestimmungsgrenzen bestimmt.

Erst wenn die Ergebnisse der QM-Kontrollen mit der Validierung und den Kundenvorgaben konform sind, wird das kalibrierte System freigegeben und mit den eigentlichen Analysen begonnen. Dabei werden in regelmäßigen Abständen weitere Kontrollproben mitanalysiert, um Drifts und Fehlfunktionen während der Probenläufe auszuschließen.

Die Carotinoide gehören bei BioTeSys zu den am häufigsten bestimmtem Analyten und sind zu Routineparametern der Analytik geworden. Im Laufe der Jahre wurden dabei die Extraktions- und Analysemethoden für eine Vielzahl von Matrices (z. B. Blut- und Zellproben, Lebensmittel, Getränke sowie Cremes) angepasst und validiert.

Wenn auch Sie Interesse an einer Carotinoidanalyse haben, sprechen Sie mit uns. Wir werden Sie gerne kompetent bei Ihrer Fragestellung beraten. Selbstverständlich behandeln wir alle Informationen, Proben- und Analysendaten mit absoluter Vertraulichkeit.

Literatur:

- [1] Gallicchio, L.; Boyd, K.; Matanoski, G.; Tao, X.G.; Chen, L.; Lam, T.K.; Shiels, M.; Hammond, E.; Robinson, K.A.; Caulfield, L.E.; Herman, J.G.; Guallar, E.; Alberg, A.J. Carotenoids and the risk of developing lung cancer: a systematic review. *Am.J.Clin.Nutr.* 88 (2008), 372-383.
- [2] Neuhouser, M.L.; Barnett, M.J.; Kristal, A.R.; Ambrosone, C.B.; King, I.B.; Thornquist, M.; Goodman, G.G. Dietary supplement use and prostate cancer risk in the Carotene and Retinol Efficacy Trial. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 18 (2009), 2202-2206.
- [3] Virtamo, J.; Pietinen, P.; Huttunen, J.K.; Korhonen, P.; Malila, N.; Virtanen, M.J.; Albanes, D.; Taylor, P.R.; Albert, P. Incidence of cancer and mortality following alpha-tocopherol and beta-carotene supplementation: a postintervention followup. *JAMA* 290 (2009), 476-485.