



1993

## Analysis of Carotenoids in Grass Prawn Heads by High Performance Liquid Chromatography

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

---

### Recommended Citation

Wu, Pai-Wen and Hwang, Lucy Sun (1993) "Analysis of Carotenoids in Grass Prawn Heads by High Performance Liquid Chromatography," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 1 : Iss. 2 , Article 6. Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.3051>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.

## 以高效能液相層析法分析草蝦頭中紅色素

吳白玟 \* 孫璐西

行政院衛生署藥物食品檢驗局

\* 國立臺灣大學食品科技研究所

### 摘 要

本文探討草蝦頭中類胡蘿蔔素之組成,以作為日後應用草蝦頭為天然紅色素之參考。以丙酮及石油醚萃取草蝦頭,所得的紅色油狀萃取物,經低溫丙酮沈澱處理後,利用高效能液相層析法分析草蝦頭之紅色素組成及其相對含量。所用之分離管柱為 Sumipax OA-2000(5  $\mu$ m, 0.46 cm i. d.  $\times$  25 cm), 移動相為正己烷、二氯甲烷及乙醇,流速是 1.5ml/min, 在檢出器波長為 470nm 下,分析草蝦頭中紅色素。結果發現:

1. 草蝦頭中紅色素之組成為 astaxanthin (36.1%), astaxanthin monoester (31.5%) 及 astaxanthin diester (17.5%), 尚有 14.9% 的色素未鑑定出。

2. Astaxanthin 部份,含有三種光學異構物,分別是:(3R, 3'R)-astaxanthin (15%), (3R, 3'S)-astaxanthin (43.7%) 及 (3S, 3'S)-astaxanthin(41.3%)。

### 前 言

為了增加水產資源的回收,草蝦頭廢棄物之再利用,已由直接磨粉或加熱乾燥後研磨製成蝦粉飼料,進而成為提高其利用層次的抽取酵素,幾丁質及色素等多方面研究<sup>(1-3)</sup>。根據許多研究指出,添加 astaxanthin 於飼料中所得鱒魚及嘉鱚魚的肉色,被喜好程度較添加 canthaxanthin 者為佳<sup>(4,6)</sup>。此外,對以 astaxanthin 為魚肉主要紅色素之鱒魚及鮭魚而言,經由餵食 astaxanthin 的光學異構物,觀察代謝結果,推測直接餵食 astaxanthin 比由其它色素代謝產生 astaxanthin 之著色效果為好<sup>(7)</sup>。除了作為魚類養殖時體色改善劑之外,最近也有報告認為,astaxanthin 可能有維生素 A 前趨物之原活性,及高於維生素 E 千倍之抗氧化作用等生理活性,並於醫學上因其抗炎效果而受矚目<sup>(8)</sup>。故由草蝦頭中抽取其所含之 astaxanthin 類紅色素,供食品、飼料或化妝品,作為天然之著色劑及抗氧化劑,十分有價值。然而草蝦頭中紅色素組成為何,卻未見於文獻報導,故本研究擬就此進行探討。

有關 HPLC 分析水產生物色素,有兩種作

法。一種是尋找可以直接將水產生物所含各種色素完全分離之條件<sup>(9-11)</sup>,另一種是針對其主要色素成分,加以詳細分析其位置異構物 (position isomers) 或立體異構物 (stereoisomer)<sup>(12-14)</sup>。1985 年 Maoka 以 Sumipax OA 2000 配合正己烷、二氯甲烷及乙醇 (48:16:0.4, v/v/v), 流速為 1 ml/min 分離南極蝦 (*Antartic krill*) 之類胡蘿蔔素,不但將色素分出 astaxanthin 及其 monoesters、diesters 三群,並可進一步同時分析 astaxanthin 之各別光學異構物 (optical isomers)。

本文利用 HPLC 探討草蝦頭之色素組成及相對含量,以作為日後進一步研究草蝦頭色素參考。

### 材料與方法

#### 一、實驗材料

##### (一)草蝦頭原料

本實驗所用之材料為草蝦 (*Penaeus monodon*) 之頭部,得自於新合興食品公司高雄加工廠。以冷凍車運至食科所,先以好家庭 SF-168 料理機絞碎後,再分裝成 1 公斤左右,盛於塑膠袋中,凍

藏於  $-20^{\circ}\text{C}$  備用。

## (二)重要化學藥品及標準品

### 1. 色素標準品:

Astaxanthin diester, astaxanthin monoester 分離自南極蝦(*Antarctic kill*)。 (3R, 3'R), (3R, 3'S), (3S, 3'S)-astaxanthin 由 Hoffman La-Roche 公司合成。以上五種色素標準品均由日本東京大學農學部水產化學研究室 Konosu, S. 教授所提供。 Canthaxanthin 則根據 Osadca 等人方法抽自 Hoffman La-Roche 公司出品的 10% canthaxanthin powder<sup>(15)</sup>。

### 2. 溶劑:

甲醇 (methanol)、正己烷 (hexane)、丙酮 (acetone)、二氯甲烷 (dichloromethane)、甲苯 (toluene) 及異丙醇乙酯 (isopropyl acetate) 等均為皓峰 LC 級。乙醚 (diethylether) 為皓峰 UP 級。95% 酒精 (ethyl alcohol) 購自台灣省菸酒公賣局。石油醚 (petroleum ether) (b. p.  $30\sim 50^{\circ}\text{C}$ ) 購自工研院化工所。

### 3. 分離純化材料:

製備型矽膠薄層層析板 Silica gel 60 厚 2 mm (20cm  $\times$  20cm), 乾式充填管柱層析充填物 Silica gel 60 (70~230mesh), 均為 E. Merck 公司產品。乾式充填之管柱層析所用 nylon 管, 直徑 1 英寸之腸衣, 為美國 ICN 公司製品。

## 二、實驗器材

(一) 高效能液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatography)

包括注射器 (Injector, Spectroflow 491 型)、幫浦 (Pump, Spectroflow 400 型)、檢測器 (Detector, Spectroflow 783 型) 均為美國 ABI 公司製造, 去氣泡裝置 (Shodex Degas) 為日本 Shodex 公司出品, 記錄器 (Recorder, Sic Chromatocorder 12 型) 為日本 Alphatech 公司產品。

(二) 分離管柱: Sumipax OA-2000 (5  $\mu\text{m}$ , 0.46 cm i. d.  $\times$  25 cm) 為日本 Sumitomo 公司產品。

## 三、草蝦頭紅色素的萃取及純化

參照 1985 年 Simpson 及 Harrod 自蝦殼廢棄物抽取類胡蘿蔔素之方法<sup>(16)</sup>, 將絞碎的草蝦頭 1Kg 加 1 公升預冷至  $10^{\circ}\text{C}$  的丙酮, 以 Waring Blender 混合打勻 1 分鐘, 在 10,000 rpm 及  $10^{\circ}\text{C}$  下離心 15 分鐘, 沈澱物以丙酮同法再萃取二次,

所得沈澱物再以石油醚 (b. p.  $30\sim 50^{\circ}\text{C}$ ) 同法萃取一次。收集所有上層液, 加入等量石油醚, 將色層轉至石油醚層, 再加 4 倍體積 5% 硫酸鈉水溶液, 洗去殘存的丙酮和水溶性雜質, 所得色素加入 1Kg 無水硫酸鈉靜置 30 分鐘去水。過濾後濾液在不高於  $40^{\circ}\text{C}$  溫度下減壓濃縮, 去除溶劑 (石油醚), 再以氮氣吹乾, 置於真空中乾燥, 抽氣 30 分鐘, 得草蝦頭紅色素油狀萃取物。

上述紅色素油狀萃取物溶於丙酮中 (萃油/丙酮為 1:100, w/v) 於  $-10^{\circ}\text{C}$  靜置過夜, 使部分油脂沈澱之後<sup>(17)</sup>, 在  $4^{\circ}\text{C}$  左右以 10,000rpm 離心 15 分鐘後過濾, 去除沈澱物, 並以  $4^{\circ}\text{C}$  預冷之丙酮液儘量沖洗沈澱中之色素, 收集濾液, 再以減壓濃縮去除丙酮, 可得經丙酮沈澱處理之粗色素 (crude pigment)。

將活化過且調成含 20% (w/w) 水分之矽膠 (70~230 mesh), 以乾式充填方式, 直接將矽膠裝入 nylon tubing 成為高度 60cm 內徑 2.54cm 的管柱, 頂層鋪了厚約 1cm 的無水硫酸鈉以及大約 2g 之粗色素, 經甲苯及異丙醇乙酯溶離液 (4:1, v/v) 分離, 分成三個主要色帶時, 以抽氣方式將管內溶離液自管底抽乾後, 切下來的每段色帶再以 5% 甲醇的乙醚溶液攪拌, 將色素自矽膠中萃取出來, 經過慮、濃縮及氮氣吹乾等步驟, 所得色素為 DI, DII, DIII。

取約 1g 之色素 DI, 點於製備型矽膠薄層層析板 (2mm, 20cm  $\times$  20cm) 上, 先以正己烷及丙酮溶液 (3:1, v/v) 展開, 當溶液前端距層析板頂端約 1cm 處, 再以甲苯及異丙醇乙酯溶液 (4:1, v/v) 同向展開。展開完畢, 將色帶括下以含 5% 甲醇的乙醚溶液攪拌, 將色素自矽膠中溶離出來, 經過濾、濃縮及氮氣吹乾等步驟, 所得色素為 BI。DII 以同法純化得色素 BII, DIII 以同法純化得色素 BIII。所得三個主要色帶 BI, BII, BIII, 分別貯藏於  $-20^{\circ}\text{C}$  之真空乾燥盒中備用<sup>18</sup>。

## 四、草蝦頭紅色素之鑑定

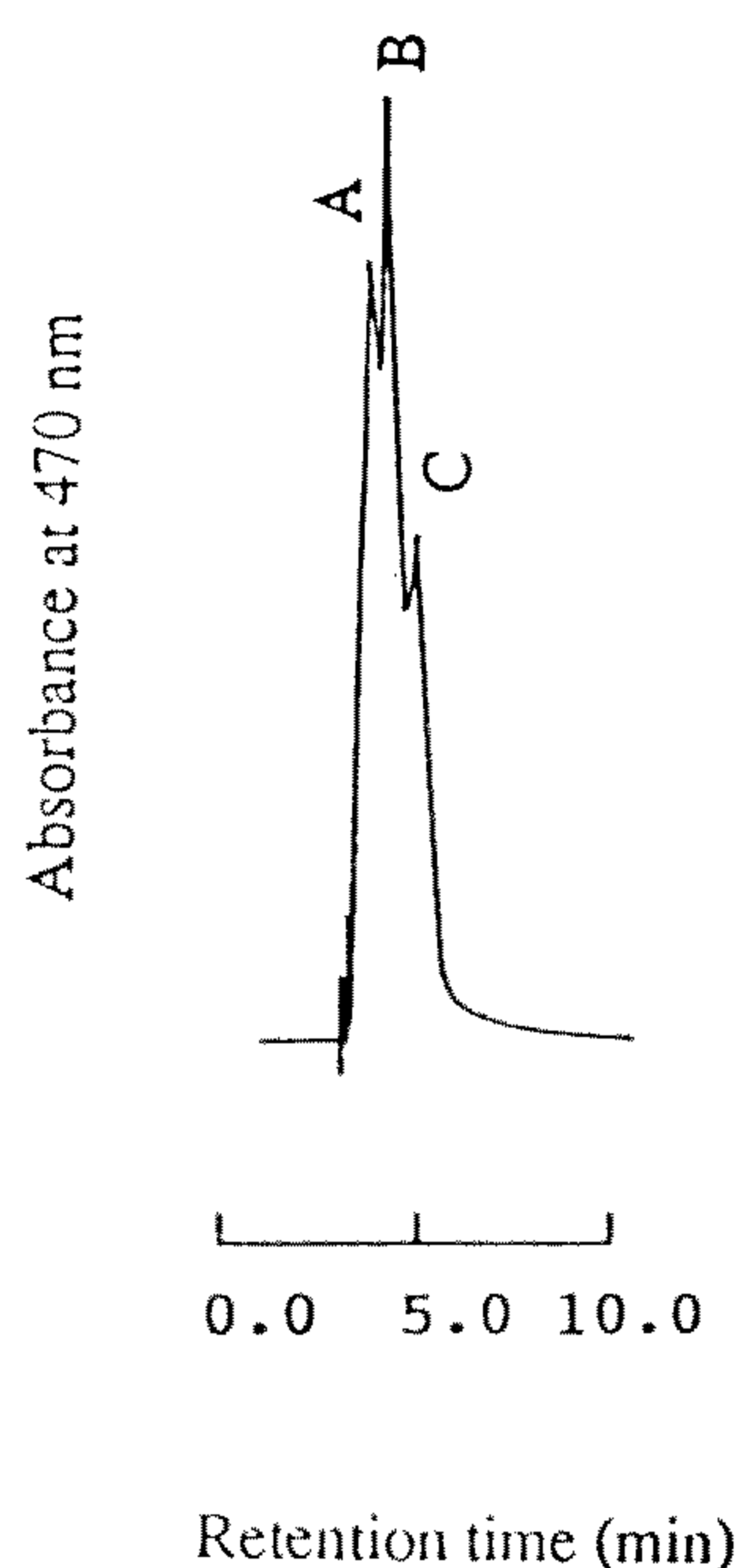
將經純化處理之 BI, BII, BIII, 和各種色素之標準品, 先溶於正己烷中, 再以 0.45 $\mu\text{m}$  孔徑的濾膜過濾後, 利用高效能液相層析儀進行分析。分析條件(一)用 Sumipax OA-2000 為分離管柱, 以正己烷、二氯甲烷及 99.5% 乙醇 (96:32:1, v/v/v) 作為移動相, 流速為 1.5ml/min, 在檢出器波長 470nm, 感度 (attenuation) 0.1AUFS 情況下, 除了比較色素樣品和標準品的滯留時間 (retention time) 外, 並將標準品和色素樣品混合後注入 HPLC, 視其是否為同一高峰加以鑑定之。

## 五、草蝦頭紅色素各成分所佔比例

將粗色素溶於正己烷中,再以分析條件(二)進行分析。分析條件(二)除了移動相之溶劑比例為120:17:1(v/v/v)外,其餘皆同分析條件(一)。由前述鑑定所得知的各色素波峰,經積分儀所得積分面積(peak area)除以全部色素之總積分面積,即為該色素在草蝦頭紅色素中所佔之百分比。

### 結果與討論

草蝦頭紅色素油狀萃取物,以丙酮沈澱前處理後所得之「粗色素」,再經乾式充填管柱層析法及製型矽膠薄層層析板純化所得三個主要色帶 BI、BII 及 BIII,於薄層層析板中之 Rf 值分別為 0.46、0.35 及 0.26。各純化色帶除了以其膠薄層層析之 Rf 值與標準品比對外,並參考 Maoka 分離南極蝦類胡蘿蔔素之條件<sup>(9)</sup>,分別以 HPLC 分析條件(一)進行分析,依其出現之先後順序,與標準品比對其滯留時間,以及和標準品共同注射的加強效果,配合皂化、乙醯化及還原等化學方法鑑定之<sup>(18)</sup>。

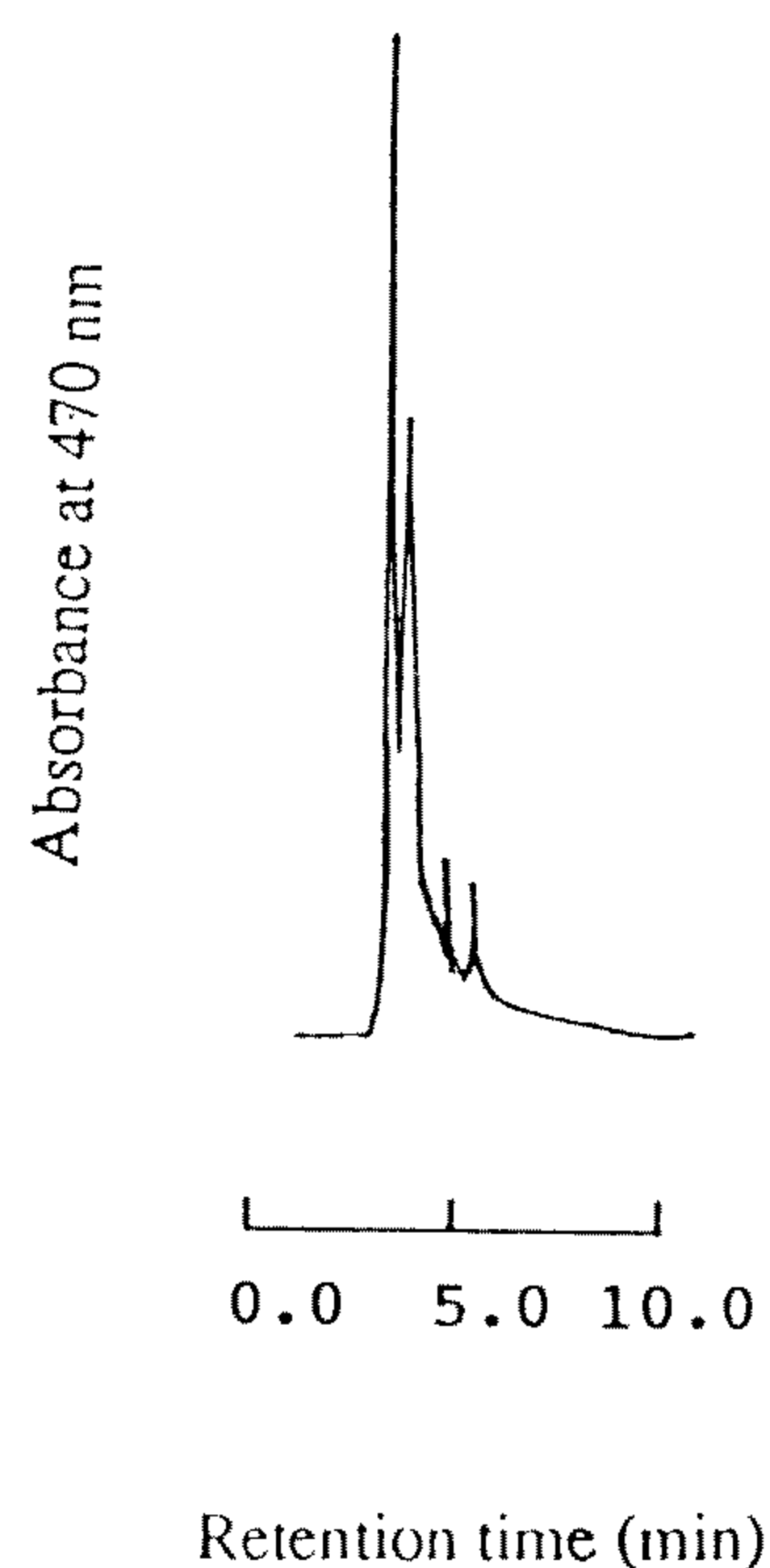


**Figure 1.** HPLC chromatogram of BI from grass prawn head. Column: Sumipa OA-2000, mobile phase: n-hexane-dichloromethane-ethanol (96: 32: 1, v/v/v), flow rate 1.5 ml/min, detector wavelength: 470nm.

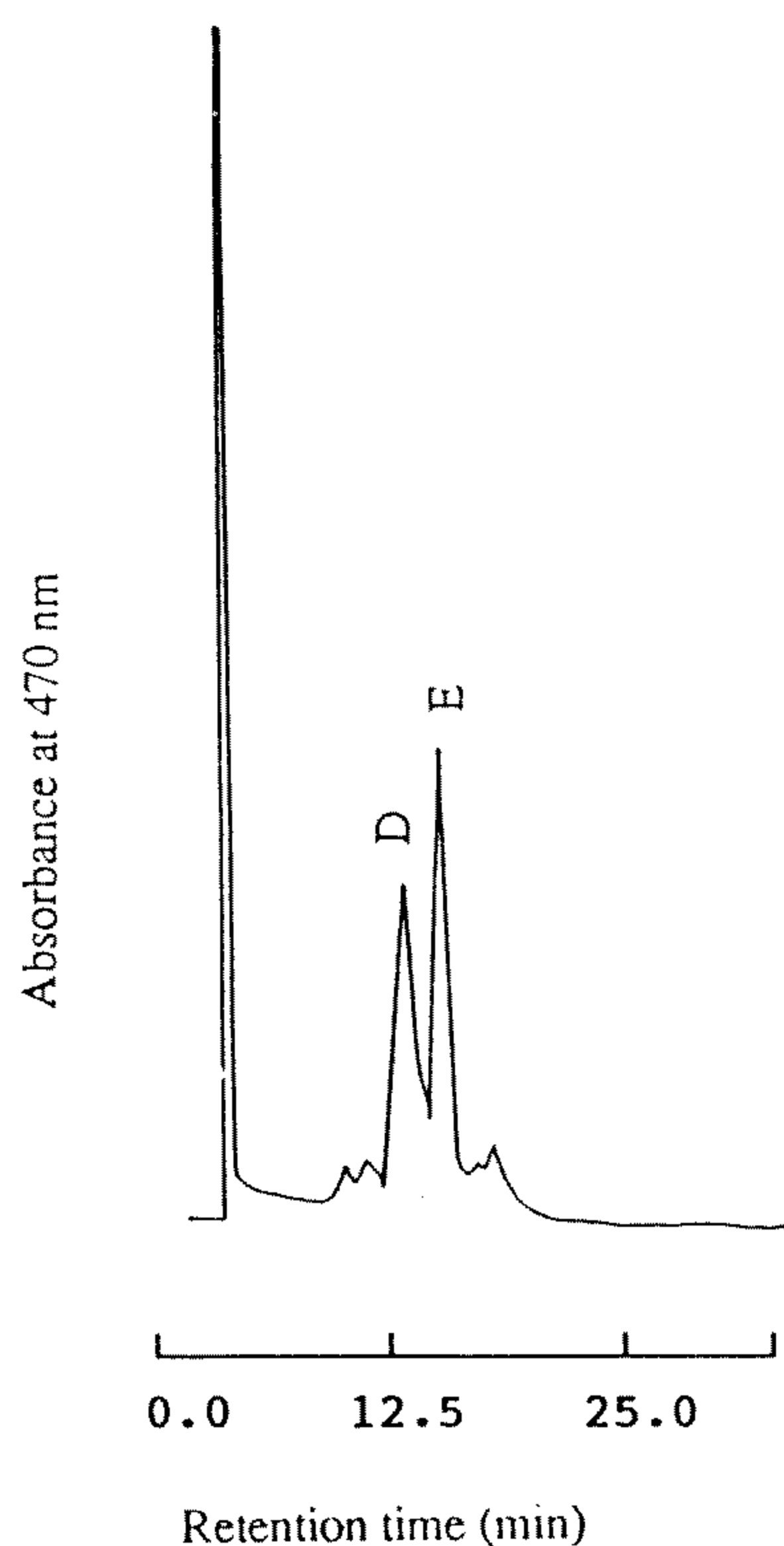
色帶 BI 以 HPLC 分析條件(一)進一步分析,所得波峰 A、B 及 C 的滯留時間分別為 3.61 分、4.26 分及 4.96 分之間(圖一),由圖二可知 astaxanthin diester 標準品之滯留時間為 3.54 分到 4.05 分之間,故推測 BI 色帶乃 astaxanthin diester,而可能因 astaxanthin 的雙酯所接脂肪酸組成差異,造成滯留時間和波峰形之些微不同。

色帶 BII 以 HPLC 分析條件(一)分析,所得之波峰 D 及 E 其滯留時間分別為 11.56 分及 14.06 分(圖三)。由於常見於水產生物的另一種色素 canthaxanthin 和色帶 BII,於 TLC 分析之 Rf 值非常相近<sup>(18)</sup>,故曾懷疑是否含有 canthaxanthin。但經與 canthaxanthin 之標準品共同注射結果,比較圖三及圖四可知 BII 不含 canthaxanthin。

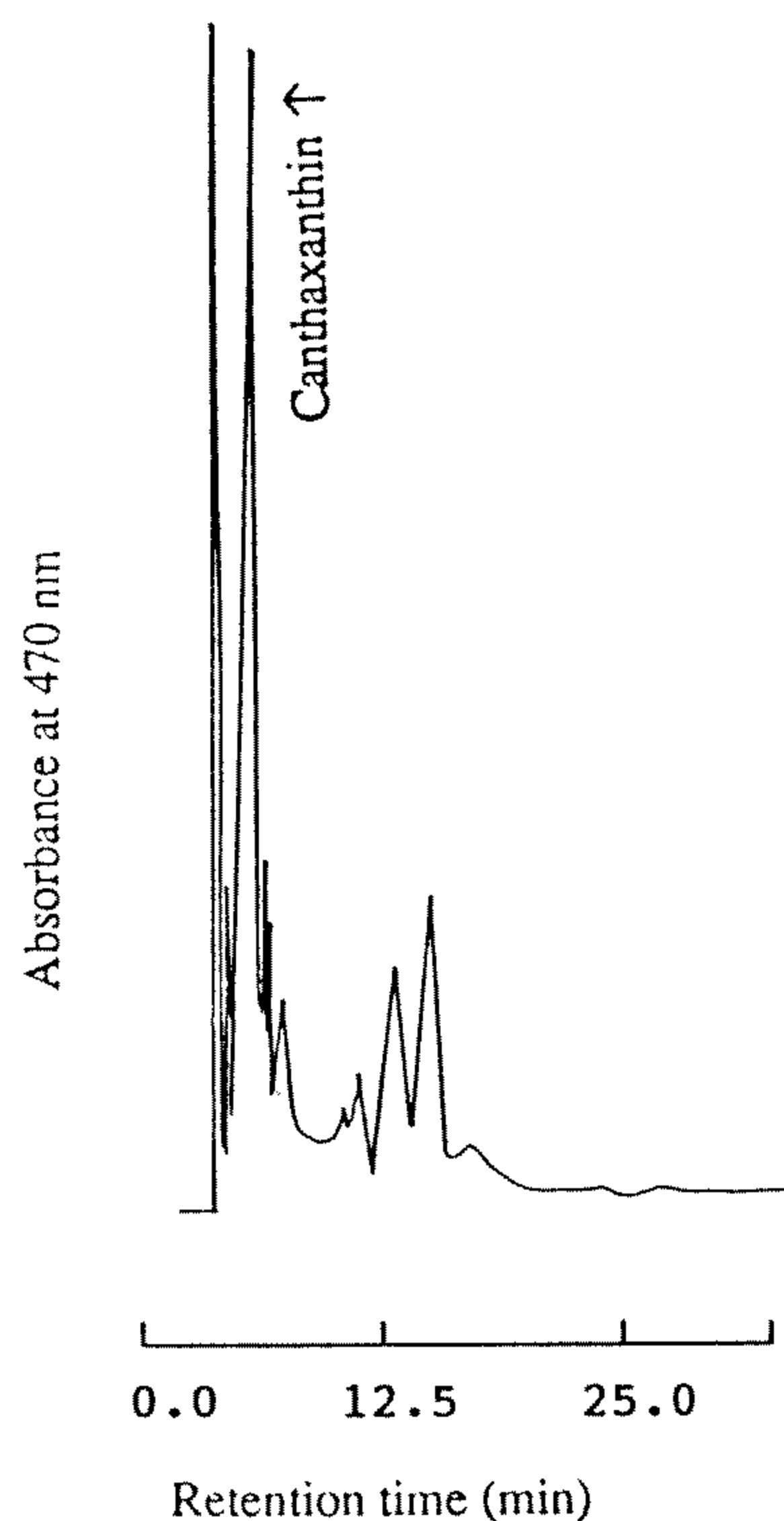
色帶 BIII 以 HPLC 分析條件(一)分析之結果如圖五所,共出現 F、G 及 H 三個波峰。(3R, 3'S)-astaxanthin, (3R, 3'S)-astaxanthin 及 (3S, 3'S)-astaxanthin 之標準品依相同分析條件所得之結



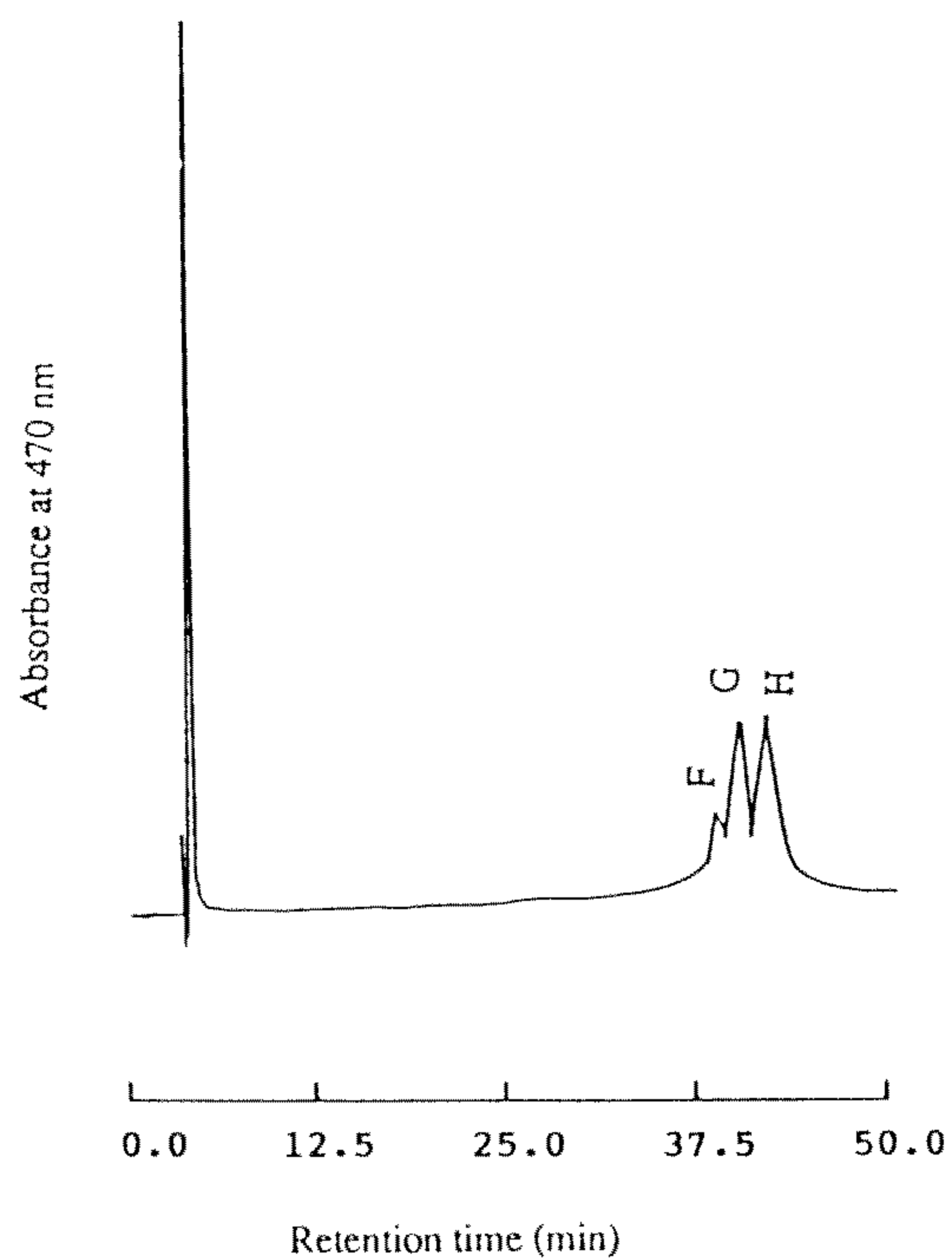
**Figure 2.** HPLC chromatogram of standard astaxanthin diesters analyzed under with the same condition as that in Figure 1



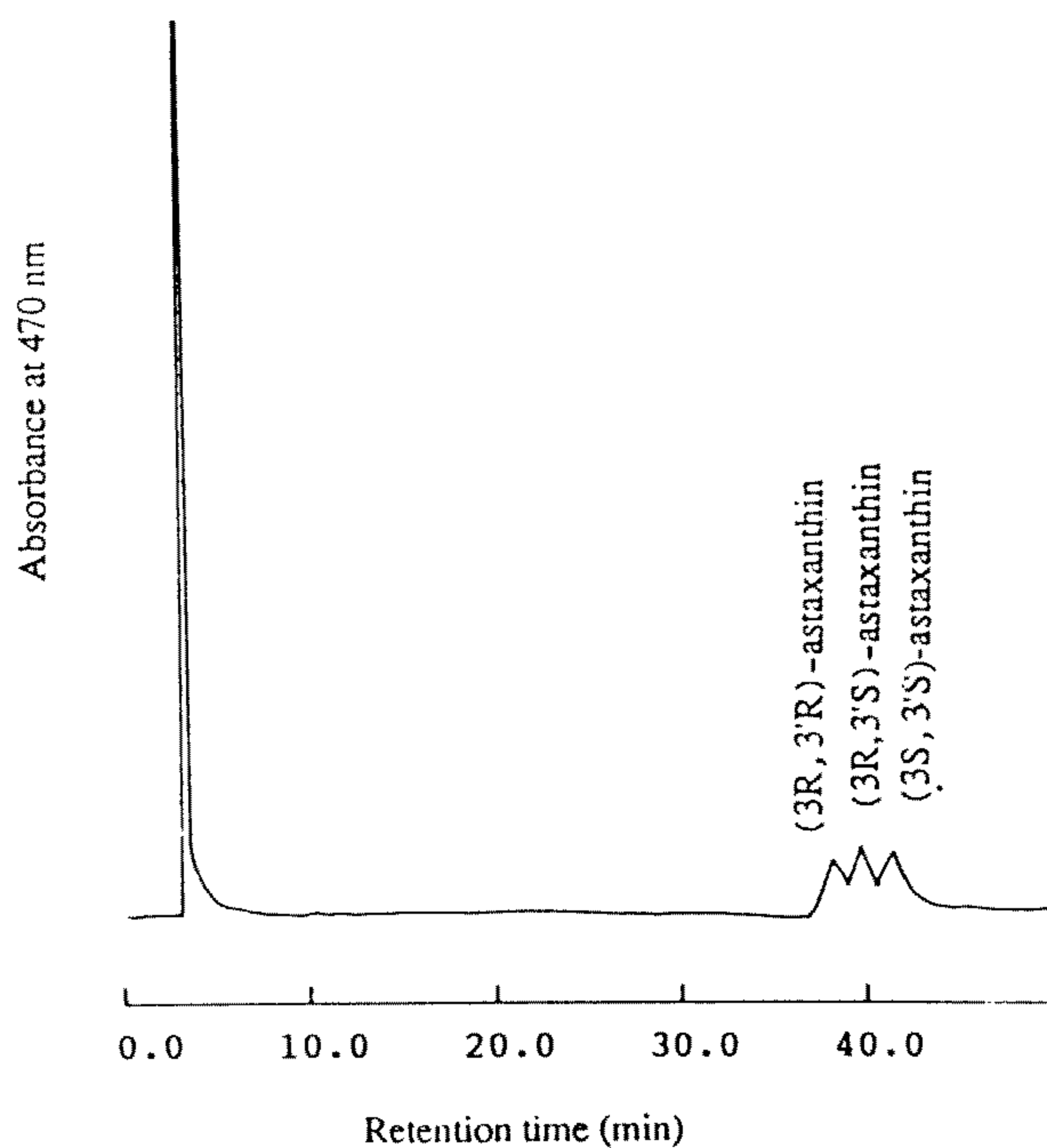
**Figure 3.** HPLC chromatogram of BII from grass prawn head analyzed under the same condition as that in Figure 1.



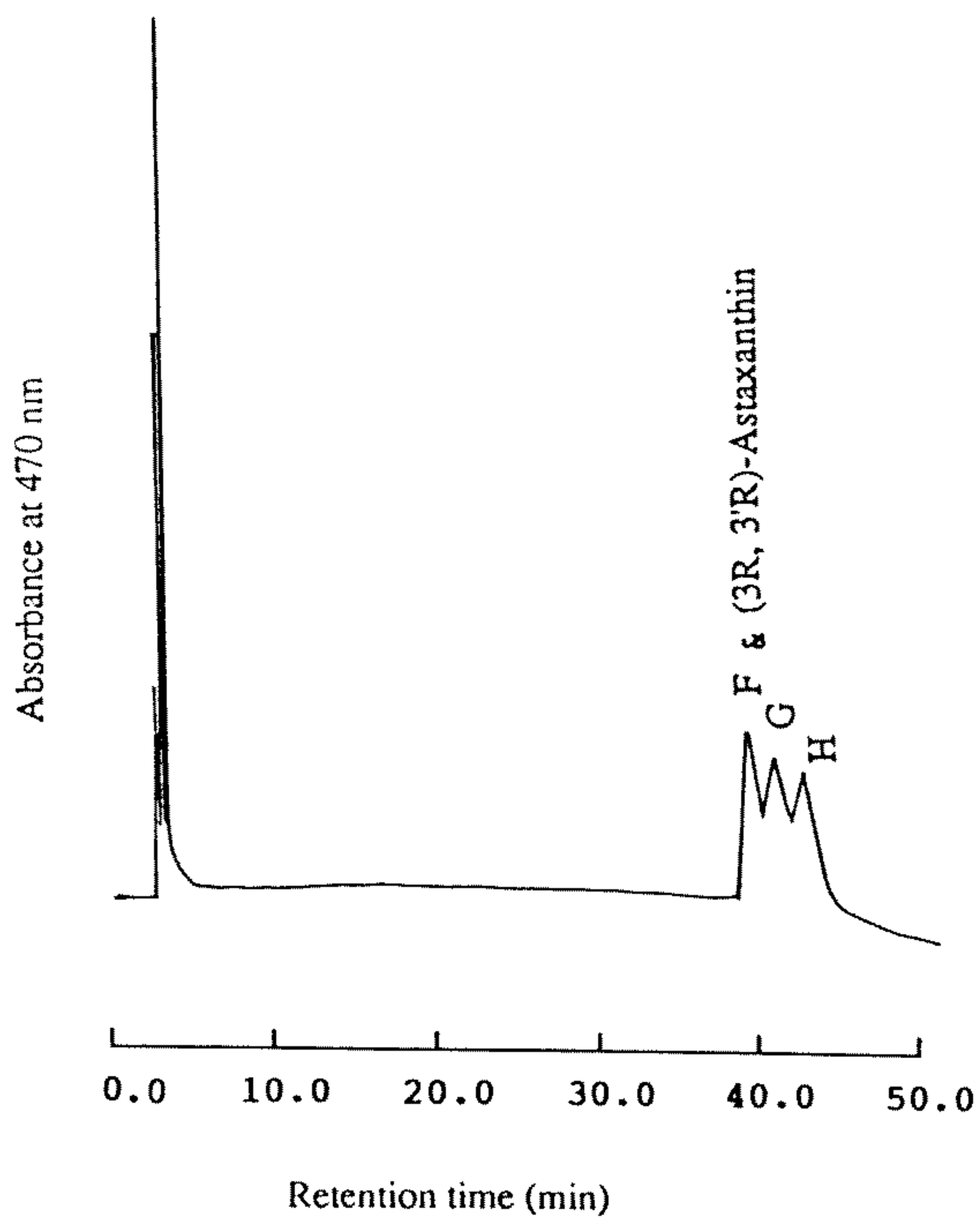
**Figure 4.** HPLC chromatogram of BII from grass prawn head and cochromatography with added canthaxanthin standard (the same condition as that in Figure 1.)



**Figure 5.** HPLC chromatogram of BIII from grass prawn head. (the same condition as that in figure 1.)



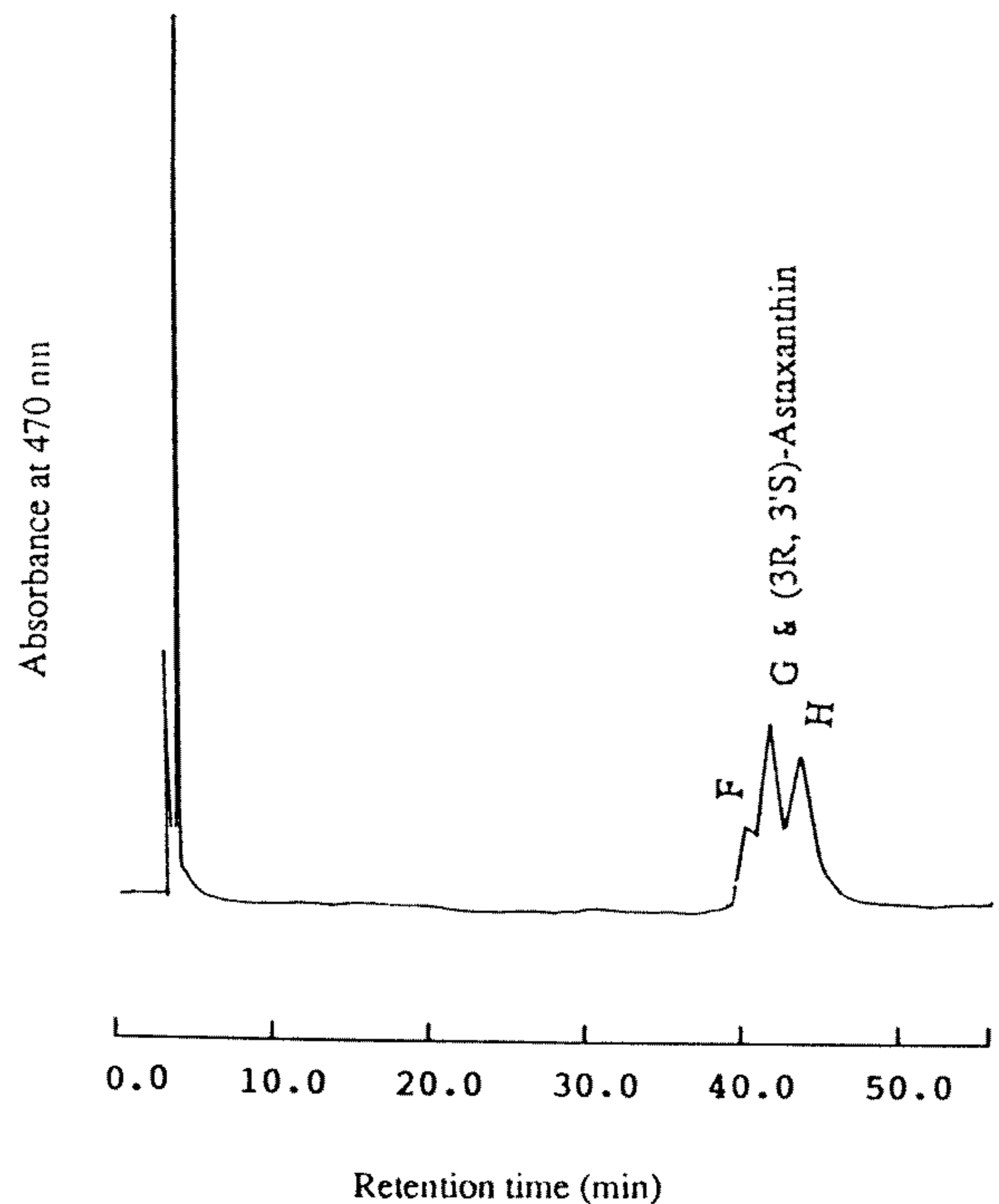
**Figure 6.** HPLC chromatogram of (3R, 3'R)-astaxanthin, (3R, 3'S)-astaxanthin, (3S, 3'S)-astaxanthin standard compounds analyzed under the same condition as that in Figure 1.)



**Figure 7.** HPLC chromatogram of BIII and (3R, 3'R)-astaxanthin (analyzed under the same condition as that in figure 1.)

果,其滯留時間依次為 37.99 分、39.54 分及 41.30 分(見圖六)。這三種立體異構物出現的順序和 Maoka 等<sup>(9-11)</sup>以此系列分析條件,所作分離三十多種水產養殖動物中所含 astaxanthin 之結果相同。Makoa 曾進一步將分析所得三個波峰,以 CD (circular dichroism) 確定其立體結構<sup>(9)</sup>。將 astaxanthin 三種立體異構物之標準品,分別和 BIII 滯留時間各為 38.04 分、39.39 分及 41.41 分之 F、G 及 H 波峰共同注射(coinjection),觀察是否有某波峰特別增大而加以鑑定。當以(3R, 3'R)-astaxanthin 和 BIII 共同注射時,原波峰 F 特別加強(見圖七),以(3R, 3'S)-astaxanthin 和 BIII 共同注射,則其波峰 G 有加強效果(見圖八),而以(3S, 3'S)-astaxanthin 和 BIII 共同注射,波峰 H 有明顯的加強效果(見圖九),可見 BIII 之三個波峰 F、G 及 H 分別是(3R, 3'S)-astaxanthin, (3R, 3'S)-astaxanthin 及(3S, 3'S)-astaxanthin。

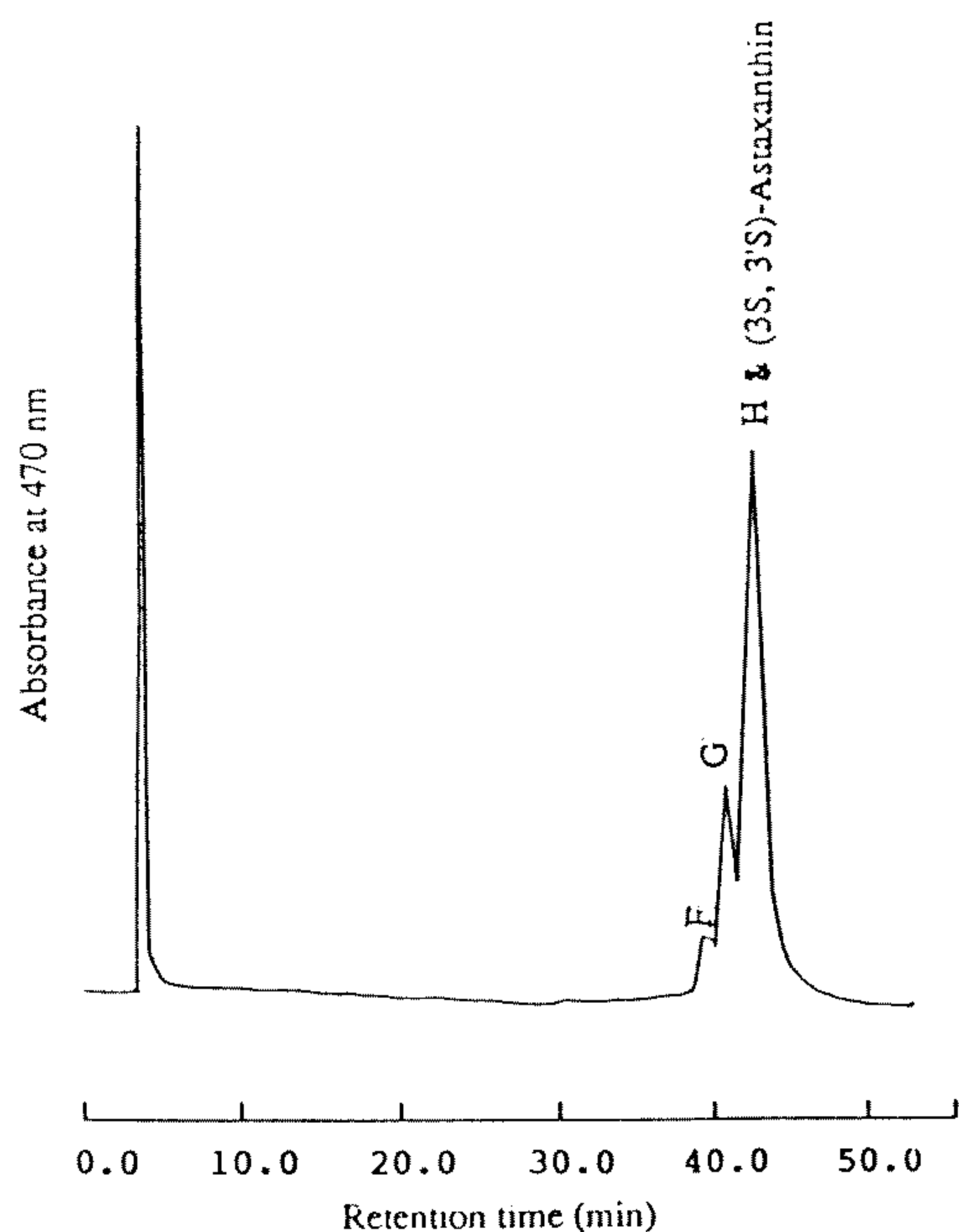
故以 HPLC 分析條件(一)進一步分析粗色素之結果,可分離成三群的波峰,依次為 astaxanthin diesters、astaxanthin monoesters 及 astaxanthin (圖十)。圖十中之第一群色素波峰 2~4(即為圖一中之波峰 A~C),應是 astaxanthin 的雙酯類。



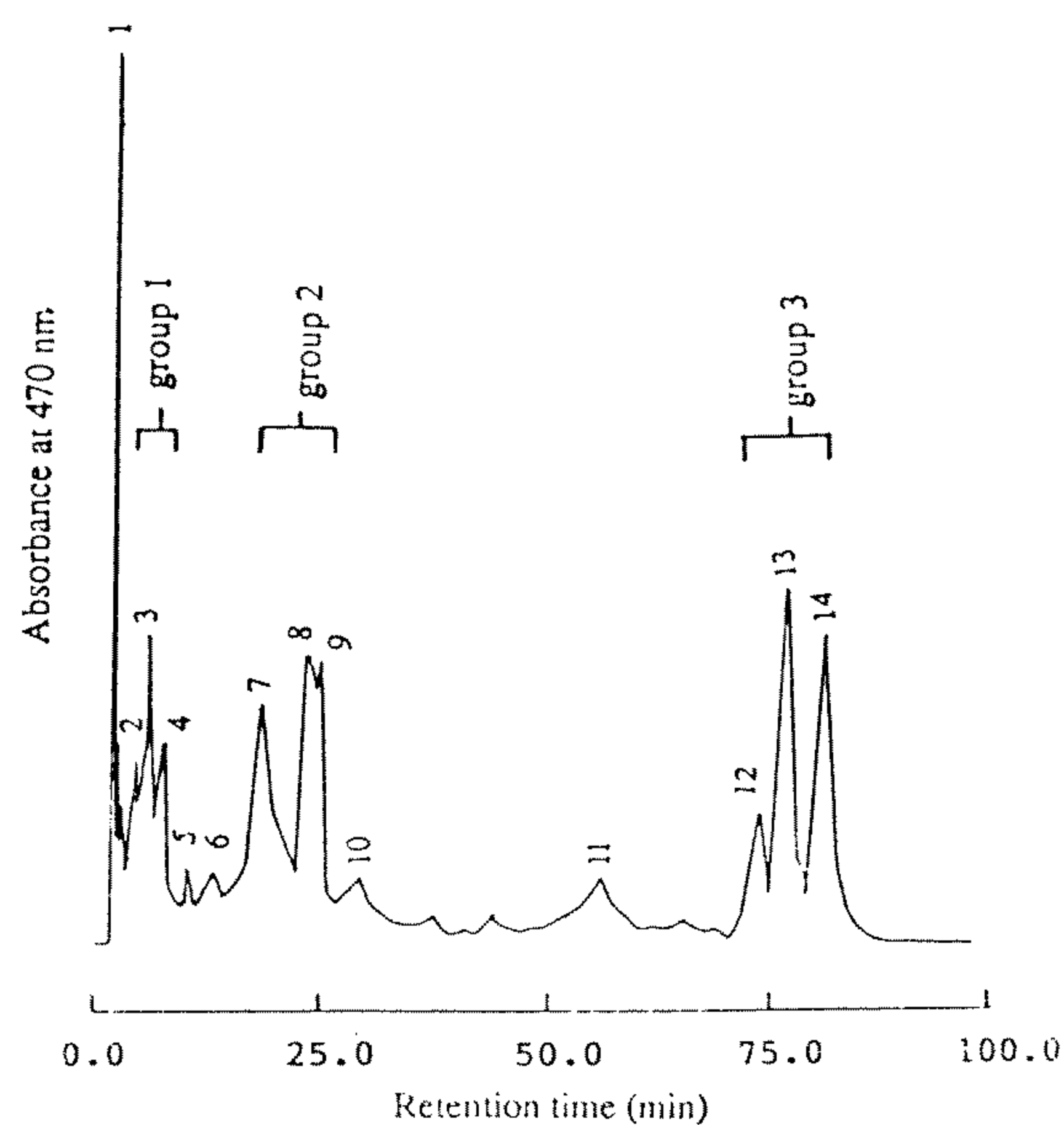
**Figure 8.** HPLC chromatogram of BIII and (3R, 3'S)-astaxanthin (analyzed under the same condition as that in figure 1.)

圖十中之第二群色素波峰 7~9 三個大波峰(即為圖三中之波峰 D 及 E),雖然在 TLC 上僅為一點圓,可能是接了不同脂肪酸之 astaxanthin 的單酯類,故在 HPLC 分析時,不只一個波峰出現。圖十中之第三群色素波峰 12~14(即為圖五中波峰之 F~H),在 Sumipax OA-2000 的層析管以正己烷、二氯甲烷和乙醇(96:32:1, v/v/v),作為溶離溶劑,出現的順序依次是(3R, 3'S)-astaxanthin, (3R, 3'S)-astaxanthin, 最後是(3S, 3'S)-astaxanthin, 故可知圖十中之第三群色素波峰 12、13 及 14,為 astaxanthin 三種立體異構物。

由圖十中各波峰之積分面積計算各類 astaxanthin 的相對含量,astaxanthin diesters(波峰 2、3 及 4)佔全部色素 17.5%;astaxanthin monoesters(波峰 7、8 及 9),則佔全部色素之 31.5%;而 free astaxanthin(波峰 12、13 及 14),則佔全部色素之 36.5%;astaxanthin 及其酯類共佔全部色素之 85.1%,即草蝦頭中的紅色素以 astaxanthin 及其酯類為主。此結果和 Yamagnchi 等人<sup>19</sup>分析南極蝦的色素成份以 astaxanthin 和其酯類為主的結果相同。其成份較班節蝦和龍蝦單純、和南極蝦之組成相近似。就 free astaxanthin 而言,有三種立



**Figure 9.** HPLC chromatogram of BIII and (3S, 3'S)-astaxanthin (analyzed under the same condition as that in figure 1.)



**Figure 10.** HPLC chromatogram of crude pigment from grass prawn head. Column: Sumipax OA-2000, mobile phase: n-hexane-dichloromethane-ethanol (120:17:1, v/v/v), flow rate: 1.5 ml/min, detector wavelength: 470nm. Peak 2-4: astaxanthin diesters, peaks 7-9: astaxanthin monoesters, peak 12: (3R, 3'R)-astaxanthin, peak 13: (3R, 3'S)-astaxanthin, peak 14: (3S, 3S)-astaxanthin

**Table 1.** Relative Contents of the Main Carotenoids Contents in Grass Prawn Head

Pigment	% *
Total Carotenoids	100
Astaxanthin Diester	17.5
Astaxanthin Monoester	31.5
Astaxanthin	36.1
Unknown	14.9
Isomers of Astaxanthin	100
(3R, 3'R)-Astaxanthin	15.0
(3R, 3'S)-Astaxanthin	43.7
(3S, 3'S)-Astaxanthin	41.3

\* Calculated as percentages of peak area by HPLC method

體異構物, 三者出現之順序及比例依次為(3R, 3'R)-astaxanthin 佔整個 free astaxanthin 之 15%, 而(3R, 3'S)-astaxanthin 佔 43.7%; (3S, 3'S)-astaxanthin 則佔 41.3% (見表一)。

## 結 論

草蝦頭中紅色素以 astaxanthin 及其酯類為主, 約佔全部色素之 85.1%; astaxanthin diesters 佔 17.5%, astaxanthin monoesters 佔 31.5%; astaxanthin 佔 36.1%; 尚有為數 14.9% 為未鑑定出之色素。

Astaxanthin 由其三種立體異構物所組成。(3R, 3'R)-astaxanthin 佔 15%, (3R, 3'S)-astaxanthin 佔 43.7%; (3S, 3'S)-astaxanthin 佔 41.3%。

## 誌 謝

非常感謝日本東京大學農學部水產化學研究室 Konosu S. 教授提供色素標準品, 和新合興食品公司高雄加工廠提供的草蝦頭原料, 以及臺北

醫學院陳繼明教授所贈之 nylon 管, 由於他們的協助使本研究得以順利完成。

### 參考文獻

1. 陳香吟. 1987. 草蝦頭之高價值利用--蛋白酵素的分離一部分純化與利用. 台灣大學碩士論文.
2. 張鈺驩. 1987. 草蝦頭中幾丁質類產品的製備方法. 台灣大學碩士論文.
3. 孫璐西. 唐嘉禧. 1987. 草蝦頭之高度利用--蝦紅素之抽取. 農委會研究計劃報告.
4. Skrede, G., Storebakken, T. and Naes, T. 1990. Color evaluation in raw, baked and smoked flesh of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed astaxanthin or canthaxanthin. *J. Food Sci.* 55(6):1574.
5. Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., Austreng, E. and Streiff, K. 1984. I. Pigmentation of Rainbow Trout with the Individual Optical Isomers of Astaxanthin in Comparison with Canthaxanthin. *Aquaculture*. 41:213-226.
6. 林崇興, 四反田勝久. 養殖魚膚色(肉色)改善方法. *中國水產*. 357:21-23.
7. Storebakken, T., Foss, P., Austreng, E. and Liaaen-Jensen, S. 1985. Carotenoids in Diets for Salmonids. II Epimerization Studies with Astaxanthin in Atlantic Salmon. *Aquaculture*. 44:259.
8. 山下榮次. 1992. クロマト精製と機能性成分--パイオ資源オキアミからのアスタキサンチン, *食品と開發*. 27(3):38-40.
9. Maoka, T., Kalsuyama, M., Kaneke, N. and Matsuno, T. 1985. Stereochemical Investigation of Carotenoids in the *Antarctic Krill Euphausia superba*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 51(10):167.
10. Maoka, T., Konori, T. and Matsuno, T. 1985. Direct Diastereomeric Resolution of Carotenoids I. 3-Hydroxy-4-oxo end group. *J. Chromatogr.* 318:122.
11. Maoka, T., Katsuyama, M., Ookubo, M., Katagiri, K. and Jimura, H. 1984. The Occurrence of Enantiomeric & meso-Astaxanthin in Aquatic Animals. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 50(9):1589.
12. Schiedt, K., Leuenberger, F.J. and Vecchi, M. 1981. Natural Occurrence of Enantiomeric and meso-Astaxanthin 5. Ex Wild Salmon (*Salmo salar* and *Oncorhynchus*). *Helv. Chim. Acta.* 64(2):449.
13. Ronneberg, H., Renstrom, B., Areskjold, K., Liaaen-Jensen, S. Vecchi, M., Leuenberger F. J., Muller, R. K. and Mayer, H. 1980. Natural Occurrence of Enantiomer and meso-Astaxanthin 1. Ex Lobster Eggs (*Homarus gammarus*). *Helv. Chim. Acta.* 63:711.
14. Vecchi, M., and Muller, R.K. 1979. Separation of (3S, 3'S)-(3R, 3'R) and (3S, 3'R)-Astaxanthin via (-)-Camphanin Acid Ester. *J. High Resolu. Chromatogr., Commun.* 4:10083.
15. Osadca, M., Araujo, M. and Ritte, R. E. De. 1972. Determination of Canthaxanthin in Concentrates and Feeds. *A.O.A.C.* 55:110.
16. Simpson, B. k. and Harrd, N. F. 1985. The Use of Proteolytic Enzymes to Extract Carotenoproteins from Shrimp Wastes. *J. Appl. Biochem.* 7:212-222.
17. Kushwaha, S. C., Pugh, E. L., Kramer, J. K. G. and Kates, M. 1972. Isolation and Identification of Dehydrosqualene and C<sub>40</sub>-Carotenoid Pigments in *Halobacterium Cutirubrum*. *Biochem. Biophys. Acta.* 260:492-506.
18. 吳白玟. 1988. 草蝦頭中紅色成分之研究. 台灣大學碩士論文.
19. Yamaguchi, K., Miki, W., Toriu, N., Kondo, Murakami, M., Konosu, S. and Fujita, T. 1983. The Composition of Carotenoid Pigments in the *Antarctic Krill Euphausia superba*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 49(9):1411.



# Analysis of Carotenoids in Grass Prawn Heads by High Performance Liquid Chromatography

PAI-WEN WU AND \*LUCY SUN HWANG

*National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan*

*\* Graduate Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University*

## ABSTRACT

The carotenoid composition in grass prawn (*Penaeus monodon*) heads was studied in this investigation to obtain basic information for any future application of the natural colorants from grass prawn heads. The red oily pigment in grass prawn heads was extracted with acetone, followed by petroleum ether (b. p. 30~50°C) which was dissolved in acetone and stored overnight at -10°C. Next, the crude pigment was obtained by removal of precipitates from the cold acetone, then finally, removal of the acetone. The crude pigment was analyzed by HPLC with Sumipax OA-2000 column (5 $\mu$ m, 0.46m i. d.  $\times$  25cm) and n-hexane/dichloromethane/ethanol (120:17:

1, v/v/v) as a mobile phase. Flow rate was set at 1.5 ml/min and the detector was set at 470 nm.

The main results are shown as follows:

1. The main carotenoids in the grass prawn heads are composed of astaxanthin, astaxanthin monoester, astaxanthin diester, and some unidentified pigments. The relative amounts of these pigments are 36.1%, 31.5%, 17.5%, and 14.9% respectively.

2. The astaxanthin fraction was separated into its three optical isomers: (3R,3'R)-astaxanthin, (3R,3'S)-astaxanthin, and (3S,3'S)-astaxanthin. The relative amounts are 15%, 43.7%, and 41.3%, respectively, as determined by HPLC.

*Key words:* Astaxanthin, Astaxanthin esters, HPLC, Grass prawn.