

文章编号 :1009-038X(2000)02-0181-03

海洋鱼油 β -环糊精包合物中 EPA 和 DHA 含量的测定*

王建中¹, 丁绍东², 赵爱民¹, 庄庆祺¹

(1. 上海医科大学仪器分析中心室, 上海 200032; 2. 无锡轻工大学中央研究所, 江苏无锡 214036)

摘要:用气相色谱法进行海洋鱼油 β -环糊精包合物中主要有效成分 EPA 和 DHA 的定量分析,使之能够定量添加至奶粉中。本研究的色谱分离效果好,实验回收率 97.67%~98.31%,变异系数 0.9%~2.1%。此外,探讨了在不同的包含条件下海洋鱼油和 β -环糊精的包含情况。

关键词:气相色谱法;海洋鱼油; β -环糊精;正二十四烷;卵磷脂

中图分类号:O657.71

文献标识码:A

Determination of EPA and DHA Contents of Ocean Fish Oil in the β -Cyclodextrin Inclusion Complexes by the Gas Chromatographic Method

WANG Jian-zhong¹, DING Shao-dong², ZHAO Ai-min¹, ZHUANG Qing-qi¹

(1. Department of Instrumental Analysis Center, Shanghai Medical University, Shanghai 200032; 2. Central Research Institute, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract: A quantitative determinations of EPA and DHA content of ocean fish oil in the β -cyclodextrin inclusion complex by the gas chromatographic method was carried out in order to add them quantitatively in the milk powder. The sample separation by the gas chromatography in this paper was excellent, and the experimental recovery rate ranged 97.67%~98.31% with the variation coefficient 0.9%~2.1%. Besides, we investigated the different inclusion conditions of fish oil and β -cycloedextrin were investigated.

Key words: GC; ocean fish oil; β -cyclodextrin; n-tetracosane; lecithin

海洋鱼油中高度不饱和脂肪酸(HUFA)的含量较高,其中 ω -3 系的二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid, DHA)所特有的生物活性,能有效地清除自由基,抑制机体脂质过氧化,保护细胞膜的正常功能以及提高记忆力、防止大脑衰老。此外,它还具有降血脂、降血压、抗血栓、降低血液粘度和预防动脉粥

样硬化等功能^[1]。据文献[2],在人类早期胚胎形成的发育过程中,适时适量持续补充人体必需的 ω -3 系多烯不饱和脂肪酸是必要的。通过特定工艺把含有 EPA 和 DHA 的海洋鱼油添加至奶粉中,对正常婴儿、孕妇、健康儿童和成人均有健脑益智的作用,并能促进早产儿脑组织和视力的发育。由于海洋鱼油有令人不适的特有气味,作者用 β -环糊精和海洋

* 收稿日期:1999-07-19;修订日期:1999-11-03。

作者简介:王建中(1953年3月生),男,上海人,主管技师。

鱼油定量形成包合物,然后添加到奶粉中.这样既提高了EPA和DHA的稳定性和生物利用率^[3],同时也增加了鱼油在水中的分散度,并能消除鱼油的气味,使之成为大众乐于接受的保健营养食品.因此海洋鱼油(EPA,DHA)与 β -环糊精包合物分析定量是完成以上工作的几个关键步骤.作者采用气相色谱法对海洋鱼油和 β -环糊精在不同条件下的包合效果进行定量研究,为选择合适的包合条件奠定了基础.

1 仪器与药品

1.1 仪器

GC-9A 气相色谱仪 C-R3A 数据处理机 日本岛津公司制造;旋涡混合仪 上海医科大学仪器厂制造;离心沉淀机 上海手术器械厂制造.

1.2 药品

二十碳五烯酸 Aldrich Chemical Co 提供;二十二碳六烯酸 北京中国药品生物制品检定所提供;海洋鱼油 上海东海药厂提供; β -环糊精 苏州味精厂提供;正二十四烷 上海试剂一厂提供;卵磷脂 上海禽蛋二厂提供;乙酸乙酯 上海试剂一厂提供.

1.3 海洋鱼油 β -环糊精包合物的制备

称取 β -环糊精,加水制成饱和溶液,边搅拌边滴加海洋鱼油(一部分加入卵磷脂,另一部分不加卵磷脂).搅拌充分后冷藏,经过滤和真空干燥,最后获得产品.

2 方法与结果

2.1 色谱条件

5% SE-30 玻璃填充柱:D 3.2 mm \times 3 m, Chromosorb W(AW-DMCS)担体 60~80 目;气化室和检测器温度 270 $^{\circ}$ C 柱温为程序升温 200 $^{\circ}$ C 保持 1 min,以 10 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C,保持 15 min 载气:氮气,体积流量 40 mL/min;检测器:FID.在此色谱条件下,内标正二十四烷与鱼油中所含 EPA 和 DHA 分离效果良好,分离度 ≥ 3 ,见图 1.

2.2 线性关系

对照品和内标溶液的配制:精密称取对照品各 0.1 g,置 10 mL 容量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,混匀备用.精密称取内标正二十四烷 0.1 g,置 10 mL 容量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,混匀备用.精密吸取对照品溶液 0.2 0.4 0.8 1.6 3.2 mL,分别置 10 mL 容量瓶中,各加入内标液 0.4 mL,再加入乙酸乙酯至刻度,混匀.分别进样 1 μ L 进行 GC 测定,每个样

品取 3 次测定峰面积的平均值,以 EPA 和 DHA 的峰面积与正二十四烷的峰面积之比对浓度进行回归计算,回归方程为:

$$\text{EPA } Y = 0.6092X - 0.00296 \quad (r = 0.9999)$$

$$\text{DHA } Y = 0.4598X - 0.0031 \quad (r = 0.9999)$$

结果表明 EPA 和 DHA 在 0.2~3.2 g/L 范围内线性关系良好.

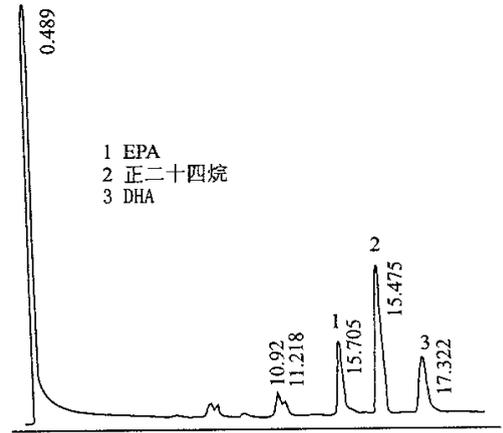


图 1 鱼油中 EPA 和 DHA 与内标正二十四烷的气相色谱分离效果

Fig.1 Gas chromatographic separating effects on EPA and DHA in fish oil and the internal standard n-tetracosane

2.3 回收率和精密度

精密称取已知含量的包合物细粉 2 份,每份约 0.1 g.分别加入 10 mg/mL 的 EPA 和 DHA 的乙酸乙酯溶液 0.02 mL 和 0.04 mL,再加入乙酸乙酯使成 1 mL.在旋涡搅拌器上提取,然后置离心沉淀机离心,取上清液 0.4 mL,加入 10 mg/mL 的正二十四烷内标液 0.04 mL 及乙酸乙酯至 1 mL,混匀,进样 1 μ L,每份重复 5 次.该方法的回收率为 97.67%~98.31%,变异系数为 0.9%~2.1%.

2.4 样品的含量测定

精密称取海洋鱼油 β -环糊精包合物细粉约 0.1 g,加入乙酸乙酯 1 mL.置旋涡混合器上进行提取,接着按回收率方法操作,测样品的含量,共测 4 批样品的包合含量,即两组不同包合配比的样品各两个,一组加入卵磷脂,另一组不加卵磷脂.加入卵磷脂样品的 EPA 和 DHA 的包合含量(质量分数)分别是 0.45% 0.27% 和 0.50% 0.32%. 不加卵磷脂的样品 EPA 和 DHA 的包合含量(质量分数)分别是 1.36% 1.27% 和 1.98% 1.91%.

3 讨论

1) 在包合过程中加入适量卵磷脂原意为改善包合条件,增加鱼油在水中的溶解度.但实验发现,

加入卵磷脂后, EPA 和 DHA 的包含量下降. 一种可能是卵磷脂占据了 β -环糊精的一部分空穴, 致使包含量下降; 另一种可能是卵磷脂和一部份鱼油形成胶团后不能进入 β -环糊精的空穴, 从而也影响了包合效果.

2) 海洋鱼油中含有丰富的 EPA 和 DHA, 但由于鱼油特有的腥味, 食用时令人难以适应. 把海洋鱼油和 β -环糊精定量包合后加到奶粉中, 能消除腥味, 改善口感, 并增加其在水中的溶解度.

3) 由于 EPA 和 DHA 分子中有多个不饱和双键, 容易氧化, 性质不很稳定. 用 β -环糊精和它们形成包合物后, 增加了它们的稳定性, 同时也提高了生物利用率.

4) 用正二十四烷作内标, 与其他的内标相比, 正二十四烷与 EPA 和 DHA 分离良好, 其色谱峰正好在 EPA 和 DHA 两个色谱峰之间, 互相没有干扰, 定量准确.

参考文献

- [1] 关美君, 丁源. 我国海洋药物主要成分研究状况[J]. 中国海洋药物杂志, 1999, 18(1): 32
- [2] 黄敬耀, 徐秀英, 楼兰英等. 鱼油抗衰老作用的实验研究[J]. 中国海洋药物杂志, 1999, 18(1): 51
- [3] 温敬铨, 崔文. 氟脲嘧啶和味氟脲嘧啶的 β -环糊精包合物的组成和稳定常数的核磁共振研究[J]. 药学学报, 1990, 25(5): 345~348

(责任编辑: 李春丽)