

膳食添加深海鱼油对机体内 EPA 和 DHA 质量分数的影响

王顺合, 顾震南*, 陈海琴, 张 灏, 陈 卫, 陈永泉

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为了研究体内 EPA 和 DHA 随膳食补充的变化规律, 根据能量平衡原则, 设计不同 EPA 和 DHA 组成的合成饲料, 分为 ω -3 组, ω -6 组和对照组 (Ctl 组) 进行小鼠饲养实验, 同时进行深海鱼油膳食补充人体实验, 研究机体对 EPA 和 DHA 吸收效率。结果表明, 饲养前后, 在 ω -3 组中血液总脂肪酸 EPA 和 DHA 的质量分数分别增加 9.1 倍和 1.99 倍。饲养后 ω -3 组与 ω -6 组相比, 肝脏总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数分别增加 66 倍和 3 倍; 附睾脂肪垫总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数分别增加 8.1 倍和 4.9 倍。饲养后 ω -3 组与 Ctl 组相比, 肝脏总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数分别增加 35 倍和 3.5 倍; 附睾脂肪垫总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数分别增加 8.1 倍和 5.8 倍。人体补充深海鱼油后, 血液总脂肪酸中 EPA 的质量分数上升 4.4 倍, 而 DHA 的质量分数上升 1.4 倍。因此在膳食中富含或缺乏 EPA 时, 机体内 EPA 的质量分数会快速升高或降低, 而 DHA 则相对稳定, EPA 比 DHA 更容易受到膳食脂肪酸的影响。

关键词: 二十碳五烯酸; 二十二碳六烯酸; 膳食脂肪酸

中图分类号: TS 201.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2017)09-0912-06

Effects of Dietary Supplementation of Fish Oil on Levels of EPA and DHA *in Vivo*

WANG Shunhe, GU Zhennan*, CHEN Haiqin, ZHANG Hao, CHEN Wei, CHEN Yongquan

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, WuXi 214122, China)

Abstract: The main focus of this study is to evaluate the effects of dietary supplement of EPA and DHA *in vivo*. The design of this study including the synthetic diets for mice, which were based on the balance of total energy, comprised the ω -3, ω -6 and control groups, and oral supplementation of fish oil for human; and to analyze the absorption efficiency of EPA and DHA in mice and in human after specified dietary supplementation. Our study showed that before and after one week dietary supplementation, the increasing ratio of EPA and DHA in blood of ω -3 group were 9.1 fold and 1.99

收稿日期: 2015-07-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31571827)。

* 通信作者: 顾震南 (1960—), 男, 上海人, 生物化学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食源性功能物质的研究。

E-mail: zhennangu@jiangnan.edu.cn

引用本文: 王顺合, 顾震南, 陈海琴, 等. 膳食添加深海鱼油对机体内 EPA 和 DHA 质量分数的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36 (09): 912-917.

fold respectively. Compared to ω -6 group, the increase ratio of EPA and DHA in ω -3 group were 66 and 3 fold in liver, 8.1 and 4.9 fold in epididymal fat pad respectively. Compared to Ctl group, the increasing ratio of EPA and DHA in ω -3 group were 35 and 3.5 fold in liver, 8.1 and 5.8 fold in epididymal fat pad respectively. Human study also showed that oral administration of fish oil led to an increase of 4.4 and 1.4 fold for EPA and DHA respectively. Relative to DHA, the change of EPA level in body was more subjected to dietary fatty acid supplementation. Thus, EPA levels in mice and human are more subject to the dietary supplement compared to DHA level, probably due to the insufficient EPA intake or high turnover ratio in vivo, supplementation of fish oil to increase EPA level in vivo is effective and probably necessary.

Keywords: EPA, DHA, dietary fatty acid

ω -3 多不饱和脂肪酸(ω -3 PUFA)是人体必需脂肪酸,主要包括二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)^[1]。人体自身并不能合成 ω -3 PUFA,必须经膳食补充才能满足机体的需求^[2]。流行病学调查和临床实验研究表明 ω -3 PUFA 对机体健康有非常重要的作用,可以显著降低机体的炎症水平,有利于心血管疾病、糖尿病、肥胖、癌症等的治疗与辅助治疗^[3-4]。

EPA 和 DHA 是膳食补充剂中较为常见的 ω -3 PUFA,是鱼油和海藻油等产品中的有效成分。EPA 在体内可与花生四烯酸(AA)通过竞争性作用减少其代谢产物如凝血恶烷 A₂、前列腺素 E₂(PGE₂)、白三烯 B₄(LTB₄)和羟基花生四烯酸类(HETE_s)等的含量,降低机体的炎症水平^[5]。EPA 主要通过减轻中性粒细胞和 T 辅助细胞的浸润来降低早期的炎症反应,改善和缓解炎症状态,减轻炎症反应^[6]。体外研究表明,EPA 和 DHA 可以显著抑制前列腺癌细胞的增殖、转移和侵袭^[7-11],但作者所在实验室之前的研究结果表明,虽然体外 EPA 和 DHA 作用相似,但体内结果明显不同。同时也有研究表明,虽然 ω -3 PUFA 包括 EPA 和 DHA 都可以显著抑制乳腺癌的发展^[12],但是两者在抑制乳腺癌骨转移方面作用并不相同,DHA 比 EPA 的抑制作用更明显,可以更好的减少骨溶解和骨损失,进一步减少骨折和骨裂的发生,增强骨质硬度^[13]。

由此可见虽然 EPA 和 DHA 都是 ω -3 PUFA,但在机体内的功能却不尽相同。作者详细分析了 EPA 和 DHA 膳食添加的响应情况。在小鼠膳食中补充等量的 EPA 和 DHA,或者完全不添加这两种脂肪酸,或者添加与 ω -3 PUFA 有竞争性抑制作用

的 ω -6 PUFA,经过一周的膳食饲养,获取小鼠的血液,肝脏和附睾脂肪垫等与脂肪酸代谢相关的组织,测定其在体内的变化情况。同时由于小鼠与人体脂肪酸代谢系统的差异,进行人膳食补充深海鱼油实验,确定人体血液中 EPA 和 DHA 质量分数变化情况。最终综合小鼠和人体内的数据,解释两者在机体内吸收情况的不同,为今后膳食补充及辅助治疗奠定数据基础。

1 材料与方法

1.1 动物实验及人膳食干预实验

1.1.1 小鼠及组织获取 15 只 SPF (Specific pathogen Free,无特定病原体)级雄性 C57BL/6J 6 周龄小鼠,随机分为 3 组:Ctl 组, ω -3 组和 ω -6 组,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司。经适应期(适应期给予小鼠标准维持饲料)后,各组开始饲喂 3 种饲料: ω -3 饲料, ω -6 饲料,Ctl 饲料,共 7 d。实验期间,所有动物均饲养于江南大学实验动物中心屏障系统,其内部湿度控制在 40%~60%,温度控制在(23±2)℃,期间所有小鼠自由采食和饮水。

各组饲料喂食 7 d 前后,在 0、7 d,所有小鼠经眼眶后静脉丛采血,每只获得 100 μ L 全血,实验结束前,牺牲小鼠,获取肝脏和附睾脂肪垫等组织,至于-80℃冰箱保存,直到进行脂肪酸组分分析使用。

1.1.2 人膳食补充鱼油实验 进行志愿者招募,共招募 20 位志愿者,其中 9 名男性,11 名女性,年龄范围为 23~27 岁,所有志愿者的平均年龄 25.1 岁。志愿者招募的主要要求为身体健康,无与脂质代谢相关的疾病,且最近一个月没有补充过鱼油或海藻油等包含大量 EPA 或者 DHA 的产品。

人膳食干预实验共 7 d, 期间尽量控制所有志愿者的进餐情况, 每天中午和晚上各补充两粒深海鱼油胶囊。每粒深海鱼油软胶囊 1.2 g, 可为机体提供 684 mg ω -3 PUFA, 其中包含 274 mg DHA 和 410 mg EPA。实验前后, 志愿者空腹 8 h, 经静脉穿刺获得全血样本, 置于 -80°C 冰箱保存, 直到进行脂肪酸组分分析使用。

1.2 实验材料与仪器

1.2.1 饲料 Ctl 饲料、 ω -3 饲料和 ω -6 饲料由变化部分和固定部分组成^[14], 三组饲料中变化的部分为制作过程中使用的油。 ω -3 饲料中每种油的添加质量分数为 8% 棕榈油、3% 橄榄油、1% DHA 油和 1% EPA 油配方; ω -6 饲料中每种油的添加质量分数为 6.5% 棕榈油和 6.5% 的红花籽油; Ctl 饲料中每种油的添加质量分数为 6.5% 棕榈油和 6.5% 橄榄油。每种饲料中固定成分的质量分数为 30% 面粉、10% 糊精、10% 酪蛋白、10% 蔗糖、10% 乳白蛋白、4.7% 矿物质混合物、11% Alphacel, 1% 维生素混合物、0.006% Tenox 20A、0.015% β -谷甾醇和 0.25% 酒石酸氢胆碱。其中 Ctl 饲料不含有 EPA 或 DHA, ω -3 饲料中 EPA 和 DHA 的质量相同。

1.2.2 主要试剂与仪器 正己烷和氯仿: 色谱纯, 国药集团化学试剂有限公司; 质量分数 14% 三氟化硼甲醇($\text{BF}_3 \cdot \text{甲醇}$): 西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司; 红花籽油: 珍生集团; 棕榈油: 金龙鱼集团; EPA 油和 DHA 油: 德阳华泰生物医药资源有限公司; 橄榄油: 宁波南苑食品有限公司; 鱼油软胶囊: Kirkland Signature 公司产品。

仪器: GCMS-QP2100 型气相色谱-质谱联用仪; 日本岛津公司; 氮吹仪: 上海泉岛公司。

1.3 脂肪酸成分测定

血液、组织和饲料的脂肪酸前处理方法及气象色谱-质谱联用仪使用条件参见文献[15]。

1.4 数据处理和分析方法

利用 Excel 2010 对实验数据进行统计分析和绘图, 利用 SPSS 17.0 以实验结果进行显著性统计分析($p < 0.01$)。

2 结果与讨论

2.1 饲料主要成分及脂肪酸组成

为了阐明膳食补充 EPA 和 DHA 对机体内 EPA 和 DHA 质量分数的影响, 在营养物质全面和

各组分能量平衡的基础上设计和使用合成饲料, 并对合成的饲料进行脂肪酸成分分析, 确保饲料与实验设计相符, 结果见表 1。由表 1 可知, ω -3 饲料中 EPA/DHA 为 1.07, 与设计值 1 非常接近, 同时各饲料的脂肪酸组成与实验预期值相似, 因此制作的各饲料可以真实地反映出其不同的脂肪酸组成, 进一步说明 EPA 和 DHA 受膳食脂肪酸补充的影响。

表 1 3 种饲料中脂肪酸占总脂肪的百分比

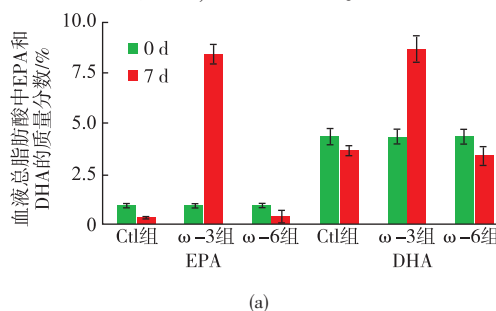
Table 1 Percentage of the fatty acid of total fatty acid in three diets %

脂肪酸	ω -3 饲料	ω -6 饲料	Ctl 饲料
C _{14:0}	1.02±0.03	1.11±0.01	1.59±0.02
C _{16:0}	26.95±0.46	22.50±0.09	24.04±0.23
C _{16:1}	0.39±0.01	0.32±0.02	0.56±0.01
C _{18:0}	3.83±0.14	4.36±0.09	5.01±0.03
C _{18:1}	46.73±0.45	28.79±0.02	55.58±0.21
C _{18:2}	10.22±0.21	40.99±0.01	11.89±0.02
C _{18:3ω-3}	0.34±0.01	0.89±0.01	0.48±0.01
C _{18:4ω-3}	0.18±0.01	ND	ND
C _{20:0}	0.31±0.02	0.48±0.01	0.36±0.01
C _{20:1}	0.19±0.01	0.17±0.01	0.18±0.02
C _{20:5}	4.85±0.17	0.08±0.02	ND
C _{22:0}	0.18±0.01	0.25±0.02	0.32±0.01
C _{22:5ω-6}	0.34±0.02	ND	ND
C _{22:5ω-6}	0.33±0.01	ND	ND
C _{22:5ω-3}	0.36±0.02	ND	ND
C _{22:6}	4.54±0.25	ND	ND
ω -6/ ω -3	1.04	40.65	24.61
EPA/DHA	1.07	—	—

注: “ND”表示未检测到, “—”表示不存在相应的指标。

2.2 小鼠体内 EPA 和 DHA 的质量分数受膳食补充的影响

2.2.1 血液总脂肪酸中 EPA 和 DHA 质量分数受膳食补充的影响 在适应期过后, 喂食小鼠特定的实验饲料, 为期一周。在喂食前后采全血测定血中 EPA 和 DHA 的质量分数, 结果见图 1。



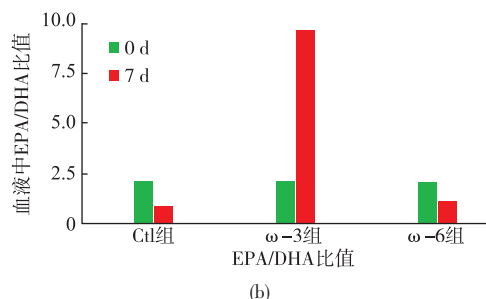


图1 小鼠血液总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数及两者的比值

Fig. 1 Percent and ratio of EPA and DHA in blood of mice

从图 1a~b 可知,与喂食实验饲料之前相比,在 ω-3 组中 EPA 的质量分数从 0.92% 上升到 8.39%, DHA 的质量分数从 4.35% 上升到 8.67%, EPA 和 DHA 的上升倍数分别为 9.1 倍和 1.99 倍,两者质量分数的比值从 0.21 上升为 0.97; 在 ω-6 组中 EPA 和 DHA 的质量分数分别从 0.92% 和 4.35% 下降到 0.39% 和 3.39%, 下降比例为原来的 57.6% 和 22%, 两者质量分数的比值从 0.21 下降为 0.11; 在 Ctl 组

中 EPA 和 DHA 的质量分数分别从 0.92% 和 4.35% 下降到 0.33% 和 3.65%, 下降比例分别为原来的 64.13% 和 16.09%, 两者质量分数的比值从 0.21 下降为 0.09。

由以上分析可知, EPA 和 DHA 在机体内的本底质量分数相差较大, DHA 的质量分数显著高于 EPA 的质量分数, 分别约为 0.8% 和 4% 左右, 在机体补充等量的 EPA 和 DHA 时, EPA 质量分数的上升倍数显著高于 DHA 的上升倍数。

由此可见血液中 EPA 的质量分数比 DHA 更加容易受到膳食补充的影响, 在补充等量 EPA 和 DHA 后可使 EPA 的质量分数达到和 DHA 相似的水平。

2.2.2 组织总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数受膳食补充的影响 为了了解机体组织中 EPA 和 DHA 的质量分数对膳食补充的响应情况, 在饲养 7 d 以后代表性摘取小鼠的肝脏和附睾脂肪垫两种与脂肪酸代谢相关的组织^[10], 测定 EPA 和 DHA 的水平, 见图 2。

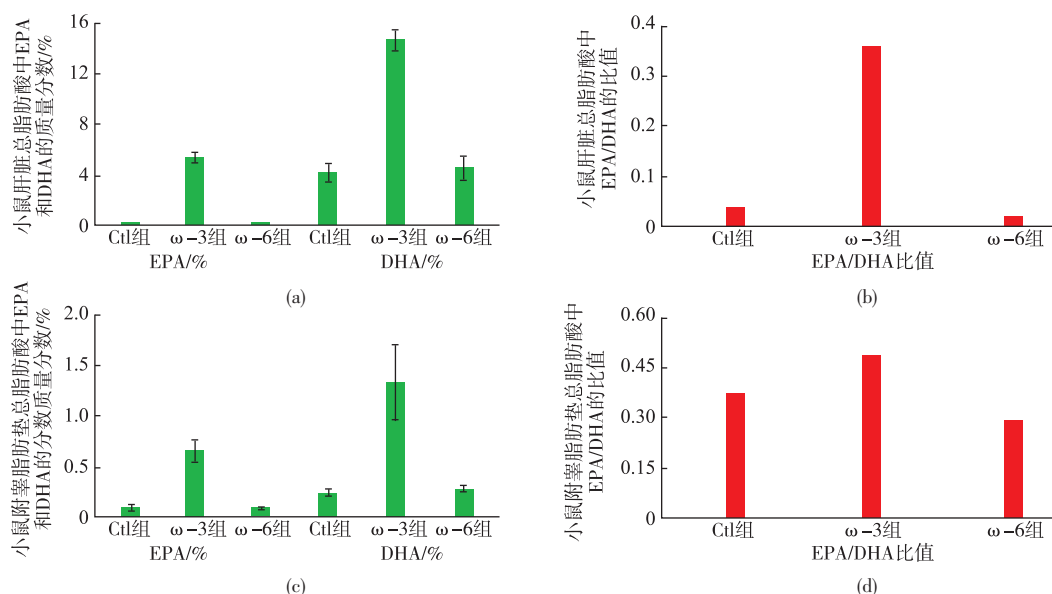


图2 肝脏和附睾脂肪垫总脂肪酸中 EPA 和 DHA 的质量分数及两者的比值

Fig. 2 Percent composition and ratio of EPA and DHA in liver and epididymal fat pad

从图 2a~d 可看出, 各组织中 EPA 的质量分数均低于 DHA 的质量分数。经 7 d 饲养期后, ω-3 组肝脏和附睾脂肪垫总脂肪酸中 EPA 的质量分数分别为 5.30% 和 0.65%, ω-6 组中两组织 EPA 的质量分数均为 0.08%, Ctl 组中两组织 EPA 的质量分数分别为 0.15% 和 0.08%, 与 EPA 不同, ω-3 组肝脏

和附睾脂肪垫总脂肪酸中 DHA 的质量分数分别为 14.72% 和 1.33%, ω-6 组中两组织 DHA 的质量分数分别为 4.47% 和 0.27%, Ctl 组中两组织 DHA 的质量分数分别为 4.13% 和 0.23%。在肝脏中 3 组的 EPA/DHA 比值分别为 0.36, 0.02 和 0.04, 附睾脂肪垫中 3 组的 EPA/DHA 比值分别为 0.49, 0.29, 0.37。

从3组中EPA和DHA的质量分数高低可以看出,在肝脏中, ω -3组与 ω -6组相比,两者的水平分别高出66倍和3倍; ω -3组与Ctl组相比,两者的水平分别高出35倍和3.5倍。在附睾脂肪垫中, ω -3组与 ω -6组相比,两者的水平分别高出8.1倍和4.9倍; ω -3组与Ctl组相比,两者的水平分别高出8.1倍和5.8倍。

由以上分析可知,与血液中的结果相似,在组织中,EPA比DHA更容易受到膳食脂肪酸的影响。

2.3 人血液总脂肪酸中EPA和DHA的质量分数受膳食补充的影响

为了探明EPA与DHA受膳食补充影响的现象只在小鼠体内发生还是在人体内也普遍存在,招募20名健康志愿者,进行膳食鱼油补充剂实验,考察血液中EPA和DHA受膳食补充剂的影响,见图3。

从图3a~b中可以看出,经过一周膳食补充剂以后,EPA和DHA的质量分数分别从0.4%和2.01%上升到1.78%和2.73%,上升倍数分别为4.4倍和1.4倍,两者的比值由0.2上升到0.65。人血液

中EPA质量分数的升高倍数显著高于DHA。因此不仅仅是小鼠体内,在人的血液中也存在这种现象,即EPA和DHA受膳食脂肪酸质量分数的影响不同,EPA更易受到膳食补充剂的影响。

3 结语

作者研究了EPA和DHA对膳食补充的响应关系。结果表明,在膳食中添加等量的EPA和DHA时,小鼠血液、肝脏和附睾脂肪垫中EPA的质量分数增加倍数显著高于DHA的增加倍数,在膳食中添加与 ω -3脂肪酸有竞争关系的 ω -6脂肪酸时或者在膳食中两者都不添加时,EPA质量分数的下降程度也显著大于DHA的下降程度。同时在人膳食补充实验中我们也看到了相似的实验结果。因此机体内EPA和DHA对膳食补充的响应情况不同,EPA比DHA更加容易受到膳食补充的影响。这为今后膳食补充EPA与DHA在预防和治疗各种相关疾病中的作用提供了数据支撑。

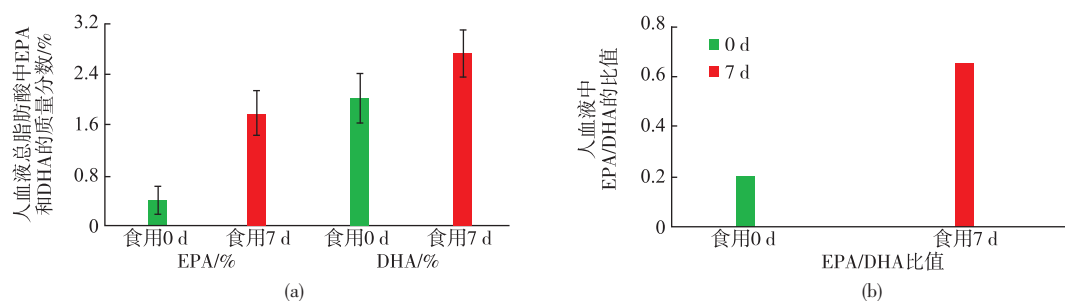


图3 人血液总脂肪酸中EPA和DHA质量分数及两者的比值

Fig. 3 Percent and ratio of EPA and DHA in blood of human

参考文献:

- [1] SIRIWARDHANA N, KALUPAHANA N S, MOUSTAID-MOUSSA N. Health benefits of n-3 polyunsaturated fatty acids: eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2012, 65: 211-222.
- [2] MEYER B J, MANN N J, LEWIS J L, et al. Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids [J]. *Lipids*, 2003, 38(4): 391-398.
- [3] ASTORG P, ARNAULT N, CZERNICHOW S, et al. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women[J]. *Lipids*, 2004, 39(6): 527-535.
- [4] ELLULU M S, KHAZA'AI H, ABED Y, et al. Role of fish oil in human health and possible mechanism to reduce the inflammation[J]. *Inflammopharmacology*, 2015, 23(2-3): 79-89.
- [5] KINSELLA J E, LOKESH B, STONE R A. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1990, 52(1): 1-28.
- [6] SIERRA S, LARA-VILLOSLADA F, COMALADA M, et al. Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid equally incorporate as decosahexaenoic acid but differ in inflammatory effects[J]. *Nutrition*, 2008, 24(3): 245-254.

- [7] LI C C, HOU Y C, YE H C L, et al. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on prostate cancer cell migration and invasion induced by tumor-associated macrophages[J]. **PloS One**, 2014, 9(6):
- [8] MENG H, SHEN Y, SHEN J, et al. Effect of n-3 and n-6 unsaturated fatty acids on prostate cancer (PC-3) and prostate epithelial (RWPE-1) cells in vitro[J]. **Lipids in Health and Disease**, 2013, 12(160).
- [9] BERQUIN I M, EDWARDS I J, KRIDEL S J, et al. Polyunsaturated fatty acid metabolism in prostate cancer[J]. **Cancer Metastasis Reviews**, 2011, 30(3-4):295-309.
- [10] EDWARDS I J, SUN H, HU Y, et al. In vivo and in vitro regulation of syndecan 1 in prostate cells by n-3 polyunsaturated fatty acids[J]. **The Journal of Biological Chemistry**, 2008, 283(26):18441-18449.
- [11] SHIHUA WANG J H W, JANEL SUBURU, ZHEN NAN GU, et al. Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on castration-resistant Pten-null prostate cancer[J]. **Carcinogenesis**, 2012, 33(2):404-412.
- [12] LIU J, MA D W. The role of n-3 polyunsaturated fatty acids in the prevention and treatment of breast cancer[J]. **Nutrients**, 2014, 6(11):5184-5223.
- [13] RAHMAN M M, VEIGAS J M, WILLIAMS P J, et al. DHA is a more potent inhibitor of breast cancer metastasis to bone and related osteolysis than EPA[J]. **Breast Cancer Research and Treatment**, 2013, 141(3):341-352.
- [14] REEVES P G, NIELSEN F H, FAHEY G C, JR. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet[J]. **The Journal of Nutrition**, 1993, 123(11):1939-1951.
- [15] 王顺合. ω -3 多不饱和脂肪酸在肠道内的分布、机体吸收和抗炎作用[D]. 无锡:江南大学, 2015.
- [16] XIE Zhenxing, LI Xiu, GENG Xu. GABA inhibits the liver oxidative stress and hepatic steatosis in high-fat diet-fed obese mice [J]. **Food Science and Biotechnology**, 2015, 34(6):613-620. (in Chinese)

会 议 消 息

会议名称(中文):食品发酵微生物组论坛

所属学科:动植物微生物学、生物物理学、生物化学及分子生物学

开始日期:2017-10-25 结束日期:2017-10-29

所在城市:北京市 朝阳区

具体地点:中国科学院微生物研究所

主办单位:中国菌物学会、中国科学院真菌学国家重点实验室

联系人:蒋娜、齐莎 联系电话:01064807455、01064807515

E-MAIL:microb2017@163.com

会议网站:http://www.msconfungi.org.cn/templates/T_Contents/index.aspx?nodeid=8&page=ContentPage&contentid=815

会议背景介绍:由中国菌物学会、中国科学院真菌学国家重点实验室共同主办的“食品发酵微生物组论坛暨培训班”,将于2017年10月25-29日在北京举行。本次会议将通过讲授食品发酵微生物组和相关领域的国际最新研究进展,更新我国相关企业、科研和教学单位相关人员的食品微生物学知识和技能,促进传统食品发酵工艺的现代化升级改造和企业发展。

会议将特邀各个研究方向专家,讲授下列内容:1) 国际微生物组,特别是食品发酵微生物组研究的最新进展及其应用潜力;2) 食品微生物分类系统和鉴定方法更新;3) 培养和非培养微生物多样性和群落研究新技术;4) 食品发酵微生物基因组、宏基因组、宏转录组和代谢组研究理论与方法;5) 食品发酵微生物新分离鉴定方法实验和演示;6) 食品发酵微生物基因组、宏基因组和宏转录组生物信息学分析方法介绍和演示。