

检测分析

淡水鱼油性质测定及其在人乳替代脂市场的应用研究

黄磊, 邹孝强, 郑莉, 金青哲, 王兴国

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏省食品营养与安全协同创新中心, 江苏无锡214122)

摘要:对巴沙鲮鱼油等市场上常见的10种淡水鱼油脂肪酸、sn-2脂肪酸组成进行了测定与分析。结果表明:大部分淡水鱼油中棕榈酸含量在15%~25%、油酸含量在25%~45%,和人乳脂肪较为接近;巴沙鲮鱼油、黑鱼油、鲈鱼油、鲤鱼油、白鲢鱼油sn-2棕榈酸含量分别为44.27%、40.91%、31.31%、30.02%和31.02%,且sn-2棕榈酸分布均高于50%;巴沙鲮鱼油、黑鱼油的sn-1,3油酸含量在50%左右,并通过UPLC-MS/MS验证了OPO的存在,推测适合作为人乳替代脂的基料油;鲤鱼油中中碳链脂肪酸C10:0和C12:0总含量超过10%,易于婴幼儿吸收;鲈鱼油中DHA含量为12.73%,对于婴幼儿智力发育有着关键作用,鲤鱼油和鲈鱼油适合作为人乳替代脂的配料油。

关键词:淡水鱼油;人乳替代脂;脂肪酸;sn-2脂肪酸

中图分类号:TS225.2;TS252.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2018)01-0131-05

Property determination of freshwater fish oil and its application in human milk fat substitutes

HUANG Lei, ZOU Xiaoqiang, ZHENG Li, JIN Qingzhe, WANG Xingguo

(Synergetic Innovation Center of Food Safety and Nutrition, State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: Ten kinds of freshwater fish oils were collected and their fatty acid compositions and sn-2 fatty acid compositions were analyzed. The results showed that the contents of palmitic acid and oleic acid were in the ranges of 15%–25% and 25%–45% respectively in most freshwater fish oils, which were similar to human milk fat. The contents of sn-2 palmitic acid in basa catfish oil, black flah oil, bass oil, carp oil and silver carp oil were 44.27%, 40.91%, 31.31%, 30.02% and 31.02% respectively, and the distributions of sn-2 palmitic acid were all above 50%. The contents of sn-1,3 oleic acid of basa catfish oil and black flah oil were about 50%, and the existence of OPO was validated by UPLC-MS/MS. It was conjectured that basa catfish oil and black flah oil were suitable to be the base oil in human milk fat substitutes. The total content of medium chain fatty acid including C10:0 and C12:0 was above 10% in carp oil, which was easy for infants to absorb. The DHA content in bass oil was 12.73%, which played a key role in infant's intelligence development. Carp oil and bass oil were suitable to be stock oil in human milk fat substitutes.

Key words: freshwater fish oil; human milk fat substitutes; fatty acid; sn-2 fatty acid

收稿日期:2017-03-12;修回日期:2017-08-29

基金项目:国家自然科学基金(31601433);江苏省自然科学基金(BK20140149)

作者简介:黄磊(1992),男,硕士,主要从事脂质科学与技术研究工作(E-mail:jndx_huanglei@163.com)。

通信作者:邹孝强,副教授(E-mail:xiaoqiangzou@163.com)。

人乳主要含有3%~5%的脂肪、0.8%~0.9%的蛋白质、6.9%~7.2%的碳水化合物(乳糖)、0.2%的矿物质以及其他生理活性物质,为婴幼儿提供251~314 kJ/100 mL的能量,营养价值很高^[1]。2016年我国母乳喂养情况调查报告显示,我国母乳

喂养率低于 28%^[2], 这给人乳替代品市场带来了巨大的市场潜力。

“母乳化”是目前婴幼儿奶粉一直追求的理想目标^[3]。人乳脂肪的主要成分是甘油三酯, 占脂肪成分的 98%, 其甘油三酯脂肪酸组成具有独特的位置特异性。甘油三酯中超过 60% 棕榈酸分布在 sn-2 位, 不饱和脂肪酸主要分布在 sn-1, 3 位。OPO 和 OPL 是含量最高的两种甘油三酯, 其在婴幼儿成长发育中扮演了重要角色^[4-6]。

人乳替代脂是一种利用现代技术对油脂进行改性, 模拟人乳脂肪的脂肪酸组成及其位置分布并添加在婴幼儿配方奶粉中的甘油三酯混合物。目前, 国内外对人乳替代脂的研究绝大部分是以棕榈油及其改性产品为原料, 另一部分则是以猪油为原料。主要的改性手段为酶法化学法合成, 通过提高 sn-1, 3 油酸含量, 提高 OPO 含量。BetapolTM 是以棕榈硬脂为原料合成的, 是唯一批准进入中国市场的人乳替代脂添加物。但是用棕榈硬脂和猪油合成富含 OPO 人乳替代脂也存在一些不足^[7]。对于棕榈硬脂, 虽然 sn-2 棕榈酸含量高, 但其 sn-1, 3 的棕榈酸含量也很高, 合成时需要很多的油酸来取代 sn-1, 3 棕榈酸, 增加了成本。猪油在合成人乳替代脂时存在覆盖面的问题, 伊斯兰教是世界第二大宗教, 全世界大约有 16 亿穆斯林 (2009 年), 伊斯兰信徒对猪油有所抵制, 这就限制了其应用。

早先, 洪颖^[8] 已经对常见的 50 多种植物油的脂肪酸、sn-2 脂肪酸进行了测定, 结果发现植物油 (除棕榈油) 棕榈酸多分布在 sn-1, 3 位, 不适合作为人乳替代脂原料。Zou 等^[9] 对常见的哺乳动物包括牛、羊、驴、马等的乳脂肪进行了脂肪酸、sn-2 脂肪酸、甘油三酯测定, 发现它们的组成和人乳脂肪均有很多的差异, 这些哺乳动物乳脂肪的棕榈酸在甘油三酯 3 个位置上均匀分布, 而人乳脂肪的棕榈酸超过 60% 分布在 sn-2 位上。除了哺乳动物和植物之外, 对淡水鱼油的 sn-2 脂肪酸、甘油三酯进行研究分析的报道较少。

我国淡水鱼资源丰富, 产量超过 2 000 万 t。鱼油内脏含油率高^[10], 所以市场售卖鱼油一般来源于下脚料中, 成本低。另外鱼油资源受众面广, 可以为世界所有人群食用。本文收集了市场上常见的 10 种淡水鱼油, 对其脂肪酸、sn-2 脂肪酸、甘油三酯进行了分析, 研究其是否具有在人乳替代脂市场应用的前景。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

9 种淡水鱼 (鲫鱼、草鱼、黑鱼、昂公鱼、鲈鱼、鲤鱼、鳊鱼、白鲢鱼和三文鱼), 从江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道菜市场购买, 巴沙鲶鱼油由重庆市巴沙鱼油有限公司提供。Supelco 37 种脂肪酸甲酯混标; TLC 硅胶板 60G (10 cm × 20 cm), 烟台江友硅胶有限公司; 正己烷、异丙醇、甲醇, 色谱纯, 百灵威科技有限公司; 乙醚三氟化硼溶液、氯仿、浓硫酸、冰醋酸、乙醚。

1.1.2 仪器与设备

AR2140 电子精密天平, 梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; SHA-CA 水浴恒温振荡器; HH-4 数显恒温水浴锅; XW-80A 微型旋涡混合仪; RE-52 旋转蒸发器; SHB-B95 型循环水式多用真空泵; TGL-16B 离心机; GC-14B 气相色谱仪, 日本 Shimadzu 公司; Waters Synapt Q-TOF-MS 质谱仪、Masslynx 4.1 色谱工作站; Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 淡水鱼油的提取

取新鲜鱼内脏 10 g 加入 70 mL 甲醇, 振荡 1 min; 再加入 140 mL 氯仿, 超声 10 min。在 4 500 r/min 下离心 10 min, 取上层液。在上层液中加入 40 mL 的 0.86% NaCl 溶液, 将混合后的溶液再次于 4 500 r/min 下离心 10 min。将离心后的液体置于分液漏斗中, 静置 20 min, 取下层液体于圆底烧瓶中。将圆底烧瓶中的液体放入旋转蒸发器, 40 °C 下旋蒸, 至液体剩 1 mL 左右停止。取出液体进行氮吹, 吹至液体的体积不再变化时停止。将鱼油冷冻在 -5 °C 冰箱中。

1.2.2 鱼油性质的测定

1.2.2.1 脂肪酸组成的测定

脂肪酸组成测定方法参考文献 [11]。

1.2.2.2 sn-2 脂肪酸组成的测定

根据 Luddy 等^[12] 的方法, 对薄层色谱法分离获得的甘油三酯进行水解获得 sn-2 单甘酯。用 2 mL 乙醚提取 1.2.2.1 所获得的甘油三酯条带 2 次, 并用氮气进行浓缩。向浓缩液中加入 1 mL 的 1 mol/L Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.0), 0.05% 胆盐 0.25 mL, 0.1 mL 2.2% 的氯化钙以及 10 mg 胰脂肪酶, 在 40 °C 下振荡反应 3 min, 向体系中加入 1 mL 6 mol/L 的盐酸和 2 mL 乙醚, 振荡后以

10 000 r/min离心 5 min。取出乙醚层,并用无水 Na_2SO_4 对其进行脱水处理,采用氮气将其浓缩至 200 μL 。将水解产物上样至薄板,并用正己烷-乙醚-乙酸(体积比 50:50:1)的扩展液分离获得 sn-2 单甘酯。sn-2 单甘酯的脂肪酸组成测定参照 1.2.2.1 进行。

1.2.2.3 液质联用测定甘油三酯

超高液相色谱(UPLC)条件:色谱柱为 Acquity UPLC BEH C18 分析柱(2.1 mm \times 50 mm, 1.9 μm);流动相 A 为乙腈-异丙醇(体积比 1:9),流动相 B 为乙腈-水(体积比 4:6),同时流动相 A、B 中均添加乙酸铵(每升流动相加入 10 mmol 乙酸铵);进样量 1.0 μL ,流速 0.3 mL/min;柱温 45 $^\circ\text{C}$,样品室温度 4 $^\circ\text{C}$ 。流动相洗脱条件如表 1 所示。

表 1 UPLC 洗脱程序

时间/min	A/%	B/%	流速/(mL/min)
0	70	30	0.3
30	87	13	0.3
31	70	30	0.3
32	70	30	0.3

MS 条件:ESI 电离源,正离子模式;毛细管电压 3.0 kV,锥孔电压 30 V;离子源温度 100 $^\circ\text{C}$,脱溶剂温度 400 $^\circ\text{C}$;碰撞气体为氩气,去溶剂化气体(氮)流速 700 L/h;扫描时间间隔 0.2 s;扫描范围(m/z) 200 ~ 1 500;碰撞电压 35 V。

2 结果与讨论

2.1 淡水鱼油脂肪酸组成

10 种淡水鱼油的脂肪酸组成见表 2。

表 2 10 种淡水鱼油脂肪酸组成

脂肪酸	巴沙鲶鱼油	鲫鱼油	草鱼油	黑鱼油	昂公鱼油	鲈鱼油	鲤鱼油	鳊鱼油	白鲢鱼油	三文鱼油	%
C10:0	-	-	-	-	-	-	3.35	-	-	-	
C12:0	-	-	-	-	-	-	7.49	-	-	-	
C14:0	3.41	1.29	0.76	2.19	1.19	5.92	3.15	1.01	4.61	4.93	
C16:0	27.26	14.58	15.76	21.99	17.39	17.07	16.02	16.05	18.51	12.39	
C16:1	1.05	6.47	2.03	5.07	5.76	13.26	4.82	2.48	11.66	6.65	
C18:0	7.63	4.22	20.62	5.12	4.34	2.87	5.42	5.05	1.58	2.99	
C18:1	44.56	28.76	32.81	38.48	38.61	17.01	24.37	34.55	21.88	27.97	
C18:2	11.69	25.65	34.96	15.47	23.06	3.45	8.69	30.96	2.86	8.76	
C18:3	0.21	2.46	2.83	1.59	2.82	0.77	1.22	2.75	7.75	3.36	
C20:5	0.06	2.04	0.41	0.43	0.56	2.07	4.65	0.94	2.55	4.92	
C22:6	0.12	3.22	0.22	3.65	1.71	12.73	6.59	0.53	4.22	8.95	

通过在无锡地区取样($n = 306$),分析人乳脂肪(HMF)的化学组成^[13],得到 HMF 中大量脂肪酸的平均值及范围为:C10:0(1.81%, 0.35% ~ 3.11%),C12:0(5.74%, 1.04% ~ 9.37%),C14:0(6.45%, 2.06% ~ 10.83%),C16:0(20.25%, 15.23% ~ 26.28%),C16:1(1.85%, 0.94% ~ 2.76%),C18:0(6.42%, 4.15% ~ 8.68%),C18:1(32.62%, 26.84% ~ 38.89%),C18:2(20.35%, 10.09% ~ 30.61%)。人乳替代脂中主要脂肪酸组成为棕榈酸、油酸和亚油酸。

从表 2 可以看出,大部分淡水鱼油棕榈酸含量在 15% ~ 25% 之间,油酸含量在 25% ~ 45% 之间,和人

乳脂肪具有相似性。鲫鱼油、鳊鱼油、草鱼油、昂公鱼油还含有大量的亚油酸,说明这 4 种鱼油在可能含有 OPO 的同时,也可能会有 OPL 的存在,和人乳脂肪更具有相似性。另外,实验还发现,鲤鱼油中存在超过 10% 的中碳链脂肪酸,和其他鱼油不同,中碳链脂肪酸在人体中易于水解^[14],有利于婴幼儿的吸收。综上所述,从脂肪酸组成上来说,淡水鱼油在人乳替代脂市场具有一定的潜力。为了进一步研究,对 10 种淡水鱼油的 sn-2 脂肪酸进行分析。

2.2 淡水鱼油 sn-2 脂肪酸组成

进一步对收集的 10 种淡水鱼油的 sn-2 脂肪酸进行了测定与分析,结果见表 3。

表 3 10 种淡水鱼油 sn-2 脂肪酸组成

脂肪酸	巴沙鲶鱼油	鲫鱼油	草鱼油	黑鱼油	昂公鱼油	鲈鱼油	鲤鱼油	鳊鱼油	白鲢鱼油	三文鱼油	%
C14:0	3.07	2.27	1.02	3.75	1.92	10.67	5.79	1.31	6.72	3.49	
C16:0	44.27	19.01	21.52	40.91	18.53	31.31	30.02	21.55	31.02	5.81	
C16:1	0.54	6.15	1.96	6.01	6.42	12.53	4.45	2.56	12.02	7.90	
C18:0	11.93	2.33	3.17	3.14	2.45	2.57	3.61	3.59	2.45	0.73	
C18:1	22.26	21.85	28.36	17.23	34.31	8.35	17.42	27.06	11.13	31.95	

续表 3

脂肪酸	巴沙鲢鱼油	鲫鱼油	草鱼油	黑鱼油	昂公鱼油	鲈鱼油	鲤鱼油	鳊鱼油	白鲢鱼油	三文鱼油	%
C18:2	10.45	34.21	38.23	17.11	25.65	6.05	14.07	34.80	2.48	11.80	
C18:3	2.05	3.29	3.32	1.65	3.18	1.76	2.05	3.22	6.31	5.09	
C20:5	-	1.47	-	-	0.28	3.39	-	-	4.12	6.34	
C22:6	-	2.27	-	4.39	0.78	14.51	3.24	1.13	8.67	13.08	

棕榈硬脂和猪油能作为人乳替代脂的原料,很大程度上源于它们 sn-2 棕榈酸含量较高。从表 3 可以看出,巴沙鲢鱼油、黑鱼油、鲈鱼油、鲤鱼油、白鲢鱼油的 sn-2 棕榈酸含量超过了 30%。然而其余 5 种鱼油 sn-2 棕榈酸含量比较少,不适合作为人乳替代脂的原料。另外,鲈鱼油、白鲢鱼油、三文鱼油的 sn-2 DHA 含量较高,其在婴幼儿智力发育中起着关键作用^[15]。

2.3 淡水鱼油作为人乳替代脂的选择与应用

根据以上的分析,对巴沙鲢鱼油等 5 种适合作为人乳替代脂的淡水鱼油棕榈酸、油酸组成进行分析,结果见表 4。从表 4 可以看出,5 种淡水鱼油的 sn-2 棕榈酸分布均在 50% 以上,与人乳脂肪的最低值 60% 非常接近。根据 sn-2 脂肪酸分布计算公式,可以通过用不饱和脂肪酸代替 sn-1,3 位饱和脂肪酸,保持 sn-2 棕榈酸不变,降低总棕榈酸含

量,使得棕榈酸在 sn-2 分布含量大于 60%,且需要的成本较低。另外,可以观察到,巴沙鲢鱼油和黑鱼油具备较高的 sn-1,3 油酸含量。对巴沙鲢鱼油和黑鱼油进行 UPLC-MS/MS 分析,结果如图 1 所示。从图 1 可知,巴沙鲢鱼油和黑鱼油中均发现了 OPO 的存在。高棕榈酸、油酸、sn-2 棕榈酸是高含量 OPO 的基础,推测巴沙鲢鱼油和黑鱼油适合作为人乳替代脂基料油。另外,之前也分析了鲤鱼油中存在丰富的中链脂肪酸,鲈鱼油具有丰富的 DHA 含量,可以作为配料油进行使用。目前市场人乳替代脂中中链脂肪酸多以椰子油为原料,椰子油 sn-2 棕榈酸含量低,棕榈酸在 sn-2 分布也非常低,从而它的加入会导致基料油 sn-2 棕榈酸含量以及棕榈酸在 sn-2 分布降低,对人乳替代脂是不利的。使用鲤鱼油可以有效避免这种情况。

表 4 5 种淡水鱼油棕榈酸、油酸组成

脂肪酸	巴沙鲢鱼油	黑鱼油	鲈鱼油	鲤鱼油	白鲢鱼油	%
C16:0 含量	27.26	21.99	17.07	16.02	18.51	
sn-2 C16:0 含量	44.27	40.91	31.31	30.02	31.02	
sn-2 C16:0 分布	54.13	62.01	61.14	62.46	55.86	
C18:1 含量	44.56	38.48	17.01	24.37	21.88	
sn-2 C18:1 含量	22.26	17.23	8.35	17.42	11.13	
sn-1,3 C18:1 含量	55.71	49.11	21.34	27.84	27.26	

注:sn-2 脂肪酸分布 = sn-2 脂肪酸含量 / (3 × 脂肪酸含量) × 100%; sn-1,3 脂肪酸含量 = (3 × 脂肪酸含量 - sn-2 脂肪酸含量) / 2。

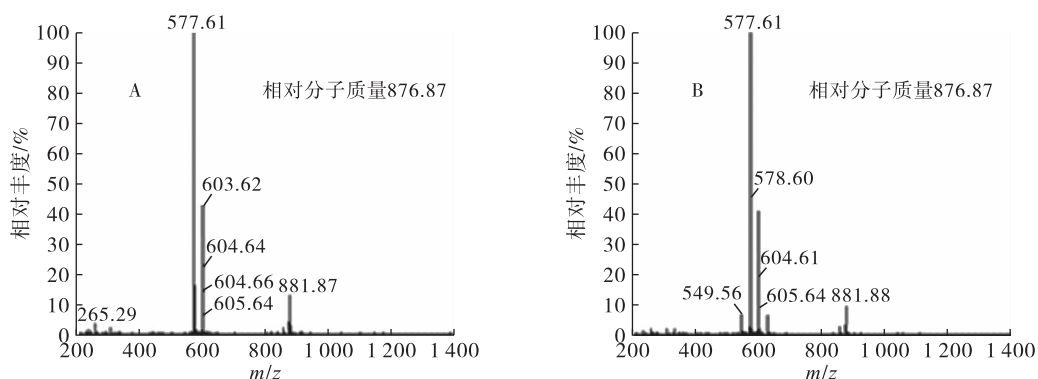


图 1 UPLC-MS/MS 测定巴沙鲢鱼油(A)、黑鱼油(B) OPO 二级质谱图

3 结论

本文通过收集市场上常见的 10 种淡水鱼油对其脂肪酸、sn-2 脂肪酸进行了测定与分析。结果发现,大部分淡水鱼油中棕榈酸、油酸含量和人乳脂

较为接近。在 sn-2 棕榈酸含量方面,巴沙鲢鱼油、黑鱼油、鲈鱼油、鲤鱼油、白鲢鱼油均超过 30%, sn-2 棕榈酸分布均高于 50%。巴沙鲢鱼油、黑鱼油因其 sn-1,3 油酸含量也高,构建了高含量 OPO

的基础,推测其适合作为人乳替代脂的基料油。鲤鱼油中存在丰富的中碳链脂肪酸,易于婴幼儿吸收;鲈鱼油中DHA含量丰富,对于婴幼儿智力发育有着关键作用,所以这两种鱼油适合作为人乳替代脂的配料油使用。淡水鱼油资源丰富,但是目前来说,鱼油资源开发的力度还比较少,市售的淡水鱼油非常少。发现淡水鱼油具有广阔的市场应用前景,值得推广。

参考文献:

- [1] CLARK R M, HUNDRIESER K E. A lack of correction among fatty acid associated with different lipid classes in human milk[J]. *Lipids*, 1998, 28(2): 157-159.
- [2] 郭俏璇, 张瑜君, 龙云, 等. 母乳喂养门诊国内外发展现状[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(13): 2756-2759.
- [3] 王青云, 程建军. 婴儿配方奶粉脂肪母乳化研究[J]. *中国乳业*, 2010(10): 68-70.
- [4] MU H L, HØY C E. The digestion of dietary triacylglycerols[J]. *Prog Lipid Res*, 2004, 43(2): 105-133.
- [5] TOMARELLI R M, MEYER B J, WEABER J R, et al. Effect of positional distribution on the absorption of the fatty acids of human milk and infant formulas[J]. *J Nutr*, 1968, 95(4): 583-590.
- [6] FILER L J J R, MATTSON F H, FOMON S J. Triglyceride configuration and fat absorption by the human infant[J]. *J Nutr*, 1969, 99(3): 293-298.
- [7] ZOU X Q, JIN Q Z, GUO Z, et al. Preparation of 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich structured lipids from basa catfish oil: combination of fractionation and enzymatic acidolysis[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 118(5): 708-715.
- [8] 洪颖. 食用油脂甘油三酯组成特征及HPLC测定方法研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2015.
- [9] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Model for human milk fat substitute evaluation based on triacylglycerol composition profile[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 61(1): 167-175.
- [10] 吴燕燕, 李来好, 李刘冬, 等. 罗非鱼油的制取工艺及其氧化防止方法[J]. *无锡轻工大学学报*, 2003, 22(1): 86-89.
- [11] 黄磊, 邹孝强, 郑莉, 等. 酸解巴沙鲈鱼油制备富含OPO的人乳替代脂[J]. *中国油脂*, 2017, 42(5): 116-122.
- [12] LUDDY F E, BARFORD R A, HERB S F, et al. Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semimicro technique[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1964, 41(10): 693-696.
- [13] ZOU X Q, GUO Z, HUANG J H, et al. Human milk fat globules from different stages of lactation: a lipid composition analysis and microstructure characterization[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(29): 7158-7167.
- [14] 邵康群, 支佩红, 沈霞, 等. 中碳链甘油三酯合成研究进展[J]. *现代农业科技*, 2011(4): 346-347.
- [15] GUESNET P, ALESSANDRI J M. Docosahexaenoic acid (DHA) and the developing central nervous system (CNS)—implications for dietary recommendations[J]. *Biochimie*, 2011, 93(1): 7-12.

· 广告 ·

上海久星导热油股份有限公司

上海股权托管交易中心挂牌 简称:久星股份 代码:E100341



久星导热油 导热永长久

二苯基甲苯化学合成导热油(沸点392°C)	Y-QQL第二代强力型清洗剂
单苯基化学合成导热油(纯度99%)	Y-XNJ导热油修复剂(黏度)
L-QC320合成导热油	LYM-225合成高温链条油
L-QC310导热油	LHM32、LHM46、LHM68抗磨液压油
Y-QZX导热油在线清洗剂	C101合成电力电容器油

地址:上海茂兴路86号22D
 总机:021-58708588
 热线:4008-810-018
 13331833379
 网址:www.9xchem.com
 邮编:200127



久星官方微信 久星官方网站