

再酯化甘油三酯型鱼油中不同结构酯的含量及稳定性分析

刘美娟, 苏昭仑, 何健, 黄远英, 殷光玲

(汤臣倍健股份有限公司, 广东 珠海 519040)

摘要:再酯化甘油三酯(rTG)型鱼油是甘油三酯(TG)、甘油二酯(DG)、甘油一酯(MG)和乙酯(EE)的混合物。为了解rTG型鱼油不同结构酯的组成及其对产品稳定性的影响,采用高效液相色谱-示差折光检测器检测了来自国内外10个厂家的18个批次rTG型鱼油中不同结构油脂的含量,与天然TG型鱼油和EE型鱼油进行比较,并考察了TG含量对rTG型鱼油产品稳定性的影响。结果表明:rTG型鱼油中TG含量在52.17%~94.80%,其中只有4个批次样品高于90%,偏甘酯含量在4.96%~38.97%,EE含量在0.28%~13.10%,其中有7个批次样品EE含量超过了5%,不符合欧洲药典(EP10.3)要求;天然TG型鱼油的TG含量在97%以上,EE型鱼油的EE含量在99%以上;与TG含量低(64.09%)的rTG型鱼油产品相比,TG含量高(90.80%)的rTG型鱼油产品酸值和过氧化值相对原料变化较小;加速氧化过程中,TG含量高的rTG型鱼油产品的酸值稳定,但TG含量低的rTG型鱼油产品酸值明显增高。rTG型鱼油产品的稳定性可能与TG含量有关,TG含量高的rTG型鱼油的稳定性比TG含量低的更好。

关键词:鱼油;再酯化甘油三酯;不同结构酯;稳定性

中图分类号:TS225.2;TS227

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2024)03-0078-04

Contents of different structure esters in re-esterified triglyceride type fish oil and its stability

LIU Meijuan, SU Zhaolun, HE Jian, HUANG Yuanying, YIN Guangling

(By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, Guangdong, China)

Abstract: Re-esterified triglyceride (rTG) type fish oil is a mixture of triglycerides (TG), diglycerides (DG), monoglycerides (MG) and ethyl esters (EE). In order to learn about the distribution of different structural esters in rTG type fish oil and their effects on product stability, 18 batches of rTG type fish oil from 10 factories in domestic and abroad were collected, the contents of different structure esters were determined by HPLC-differential refractive index detector and compared to nature TG type fish oil and EE type fish oil, and effect of TG content on the stability of fish oil product was investigated. The results showed that the TG content in rTG type fish oil was 52.17% - 94.80%, among which only 4 batches samples were higher than 90%. The content of partial glycerides ranged from 4.96% to 38.97%, and the EE content ranged from 0.28% to 13.10%, with 7 batches samples exceeding 5%, which did not meet the requirements of European Pharmacopoeia(EP10.3). The TG content in natural TG type fish oil was above 97%, and the EE content in EE type fish oil was above 99%. Compared with rTG type fish oil products with low TG content (64.09%), rTG type fish oil products with high TG content (90.80%)

收稿日期:2022-11-11;修回日期:2023-11-07

作者简介:刘美娟(1983),女,执业药师,药学中级职称,研究方向为功能性原料研究及功能性食品研发(E-mail) liumeijuan@by-health.com。

通信作者:殷光玲,工程师(E-mail)yingl@by-health.com。

had relatively small changes in acid value and peroxide value compared to raw materials. During the accelerated oxidation process, the acid value of rTG type fish oil products with high TG content was stable, while the acid value of rTG type fish

oil products with low TG content significantly increased. TG content may be related to the stability of rTG type fish oil, and rTG type fish oil with high TG content has better stability than rTG type fish oil with low TG content.

Key words: fish oil; re-esterified triglyceride; different structure ester; stability

鱼油富含二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),研究表明其具有降血脂、预防心血管疾病的作用^[1-3]。美国心脏协会建议有心血管疾病危险的人群每天摄入1 g EPA和DHA,而甘油三酯(TG)升高的人群每天摄入2~4 g EPA和DHA^[4]。我国于2020年12月将鱼油纳入保健食品原料目录,目录中规定鱼油用量范围为每天不超过4 g,其中EPA+DHA不低于1 g,可用于辅助降血脂^[5]。EPA和DHA以甘油三酯的形式天然存在于鱼油中。在天然鱼油中,EPA和DHA含量为20%~30%,而浓缩鱼油中EPA和DHA含量可达到60%~85%。浓缩鱼油有两种生产工艺:一种是将TG转化为游离脂肪酸(FFA),再与乙醇反应,得到乙酯(EE)型鱼油,这种方法成本较低^[4];另一种是将TG转化为EE,经蒸馏浓缩后得到EE型鱼油,再用酶将脂肪酸重新连接到甘油骨架上,即“再酯化”,得到再酯化甘油三酯(rTG)型鱼油,再酯化反应的转化率并不是100%,因此rTG型鱼油实际上是TG、甘油二酯(DG)、甘油一酯(MG)和EE的混合物。另外,天然鱼油中含约30%的长链 $n-3$ 脂肪酸(LC $n-3$ FA),主要分布在TG的sn-2位;而rTG型鱼油的LC $n-3$ FA则随机分布于TG的sn-2位和sn-1,3位,或结合在DG或MG上^[6]。《保健食品原料目录 鱼油》所指的鱼油包括TG型鱼油和EE型鱼油^[5],其中TG型鱼油包括天然TG型鱼油和rTG型鱼油。rTG型鱼油中TG、DG、MG和EE的含量在国内的法规中没有作要求。在国外,rTG型鱼油以Omega-3-酸甘油三酯的名称收录在各国药典,其中:欧洲药典(EP10.3)要求rTG型鱼油中TG含量不低于50.0%,EE和FFA含量不高于5.0%,而美国药典(USP40-NF35)则要求偏甘酯(即DG+MG)含量不得超过50.0%。

不同结构鱼油的生物利用度不同。体外研究表明,胰脂肪酶水解EE型鱼油的速度远低于水解相应的TG型鱼油^[7]。Dyerberg等^[8]研究表明,天然TG型鱼油的生物利用度优于EE型鱼油(73%),而rTG型鱼油的生物利用度(124%)优于天然TG型鱼油。另外,鱼油的稳定性可能与其不同结构酯的组成有关。但rTG型鱼油中TG、DG、MG及EE

含量及与鱼油稳定性的关系,目前尚未有相关的研究报道。因此,本研究收集国内外不同厂家的天然TG型、rTG型和EE型鱼油,对其TG、DG、MG及EE含量进行检测,并选取两批次EPA+DHA含量相同而TG含量不同的rTG型鱼油制成软胶囊,考察其加速氧化稳定性,以期了解rTG型鱼油中不同结构酯的含量与其稳定性的关系,并为其产品稳定性的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鱼油样品,来自国内外10家鱼油生产厂家,共计21个批次,包括样品1(金枪鱼油)、样品2(1812TG)、样品3(5020EE)、样品4~6(3322TG)、样品7~14(5020TG)、样品15~16(1050TG)、样品17(4510TG)、样品18(4832TG)、样品19(6020TG)、样品20(DHA700TG)、样品21(200200DPA100TG),其中样品1、2为天然TG型鱼油,样品3为EE型鱼油,样品4~21为rTG型鱼油。从原料型号判断浓缩鱼油(EE型鱼油和rTG型鱼油)的EPA+DHA含量在55%~80%。MG、DG、TG混合物对照品(1787-1AMP),Supelco公司;油酸乙酯对照品(CDAA-253182E),上海安谱实验科技股份有限公司。

安捷伦高效液相色谱仪(配示差折光检测器)。

1.2 实验方法

1.2.1 不同结构酯含量的测定

参照文献[9]采用高效液相色谱-示差折光检测器测定各鱼油样品中不同结构酯的含量。液相色谱条件:硅胶色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);流动相为正己烷-异丙醇(体积比15:1),流速1.0 mL/min;柱温35℃;示差折光检测器温度33℃;进样量20 μL。采用保留时间对TG、1,3-DG、1,2-DG、MG、EE进行定性,采用面积归一化法对各组分进行定量。

1.2.2 产品稳定性考察

选取了EPA+DHA含量(70%)相同而TG含量不同的两批次rTG型鱼油(样品8和样品9)试产制成软胶囊,并在温度(37±2)℃、相对湿度(75±5)%条件下考察产品的稳定性,分别在加速

氧化0、1、2、3个月时检测酸值(检测方法为GB 5009.229—2016)和过氧化值(检测方法为GB 5009.227—2016)。

2 结果与讨论

2.1 鱼油的TG、DG、MG和EE含量

各鱼油样品的TG、DG、MG和EE含量见表1。

表1 各鱼油样品TG、DG、MG和EE的含量 %

编号	TG	偏甘酯			合计	EE
		1,3-DG	1,2-DG	MG		
样品1	97.64	1.83	0.54	0	2.37	0
样品2	97.55	2.09	0.36	0	2.45	0
样品3	0.05	0.46	0.05	0.11	0.62	99.33
样品4	89.85	3.91	1.71	0	5.62	4.53
样品5	94.80	3.27	1.69	0	4.96	0.28
样品6	81.54	6.83	2.67	0	9.50	8.96
样品7	87.96	5.90	2.55	0.08	8.53	3.52
样品8	90.80	5.80	2.60	0	8.40	0.70
样品9	64.09	20.23	8.18	1.62	30.03	5.87
样品10	77.08	15.32	6.61	0.19	22.12	0.81
样品11	68.28	22.31	7.81	0.46	30.58	0.98
样品12	73.83	9.33	3.45	0.29	13.07	13.10
样品13	92.78	3.77	1.64	0.29	5.70	1.53
样品14	84.23	4.64	1.69	0.06	6.39	9.39
样品15	90.03	4.96	2.33	0	7.29	2.68
样品16	87.05	7.02	3.07	0.08	10.17	2.78
样品17	65.86	22.14	9.98	1.24	33.36	0.77
样品18	52.17	23.96	10.09	1.34	35.39	12.44
样品19	76.76	12.73	4.97	0.74	18.44	4.80
样品20	53.96	28.70	8.95	1.32	38.97	7.07
样品21	53.05	26.14	10.43	2.14	38.71	8.23

由表1可知,天然TG型鱼油的TG含量在97%以上,偏甘酯含量在3%以下,不含EE。EE型鱼油的EE含量在99%以上,说明制备工艺中乙酯化反应比较彻底。18个批次的rTG型鱼油样品的TG含量在52.17%~94.80%,均符合EP10.3的要求(TG含量 \geq 50.0%),其中有4个批次的样品TG含量高于90%,有3个批次的样品TG含量低于60%,大部分样品的TG含量集中在60%~80%。18个批次rTG型鱼油样品的偏甘酯含量在4.96%~38.97%,均符合USP40-NF35的要求(DG+MG含量 \leq 50.0%),EE含量最低,在0.28%~13.10%,其中有7个批次的样品EE含量超过了5%,不符合EP10.3的要求(EE+FFA含量 \leq 5.0%)。从检测结果来看,rTG型鱼油为TG、DG、MG和EE的混合物,其再酯化的转化率在52.17%~94.80%。

2.2 产品稳定性

样品8和样品9的酸值和过氧化值见表2。以样品8和样品9制备的鱼油软胶囊产品1和产品2在加速氧化期间的稳定性考察结果见表3。

表2 样品8、样品9的酸值和过氧化值

编号	酸值(KOH)/(mg/g)	过氧化值/(g/100 g)
样品8	0.11	0.015
样品9	0.02	0.025

表3 产品稳定性考察结果

时间(月)	酸值(KOH)/(mg/g)		过氧化值/(g/100 g)	
	产品1	产品2	产品1	产品2
0	0.13	0.9	0.018	0.056
1	0.14	2.7	0.030	0.024
2	0.14	4.3	0.041	0.011
3	0.14	6.0	0.045	0.000

由表2可知,样品8和样品9的酸值和过氧化值均符合《保健食品原料目录 鱼油》的标准要求[酸值(KOH) \leq 3.0 mg/g,过氧化值 \leq 0.13 g/100 g]。结合表2和表3可知,与产品2相比,产品1的酸值和过氧化值相对原料变化较小。这可能与产品1原料TG含量(90.80%)高于产品2原料TG含量(64.09%)有关。

酸值反映了鱼油的酸败情况。由表3可知:以样品8(TG含量90.80%)为原料制得的产品1的酸值很稳定;以样品9(TG含量64.09%)为原料制得的产品2的酸值随着加速氧化时间的延长而增加,2个月时酸值(KOH)已超出4.0 mg/g,3个月时酸值(KOH)高达6.0 mg/g。过氧化值反映的是油脂在氧化过程中生成初级氧化产物——氢过氧化物的量,氢过氧化物很不稳定,容易分解、聚合成各种化合物^[10]。由表3可知,两款产品的过氧化值较原料有轻微升高(见表2),且产品2过氧化值波动较大。加速氧化过程中,产品1的过氧化值增加,而产品2的过氧化值降低。存放或加工过程初级氧化产物的生成造成过氧化值升高,而随着时间延长,初级氧化产物进一步生成为次级氧化产物从而导致过氧化值降低。

鱼油不饱和脂肪酸含量高,比普通的油脂更易氧化酸败,特别是经过浓缩处理的EE型鱼油和rTG型鱼油,其不饱和脂肪酸占比大大提高,使得氧化酸败的现象更为突出。Sullivan Ritter等^[11]监测了商业化的EE型鱼油和rTG型鱼油在5~60℃下的过氧化值和茴香胺值,评估其氧化情况。结果发现,在实验温度下,EE型鱼油的氧化速率高于rTG型鱼

油。游离形式的 EPA 和 DHA 在其结构中有一个非常活跃的自由电子,非常不稳定^[10]。偏甘酯的极性大,亲水性高,在加热过程中易水解产生 FFA^[11];偏甘酯的结构较甘油三酯更易于与氧结合发生反应,使过氧化物含量迅速增加以及 FFA 快速氧化^[12]。本实验产品稳定性考察结果也证实了这一点,加速氧化过程中,样品 9(TG 含量 64.09%,偏甘酯含量 30.03%,EE 含量 5.87%)制得的产品 2 酸值较样品 8(TG 含量 90.80%,偏甘酯含量 8.40%,EE 含量 0.70%)制得的产品 1 酸值变化明显加快。因此,TG 含量在 90%以上、EE 和游离脂肪酸含量在 5%以内的 rTG 型鱼油制得的产品稳定性可能更好。

3 结论

对国内外鱼油生产厂家天然 TG 型、EE 型和 rTG 型鱼油组成的测定结果显示:天然 TG 型鱼油的 TG 含量在 97%以上;EE 型鱼油的 EE 含量在 99%以上;rTG 型鱼油的 TG 含量在 52.17%~94.80%,偏甘酯含量在 4.96%~38.97%,EE 含量在 0.28%~13.10%,其中只有 4 个批次 rTG 型鱼油样品 TG 含量高于 90%,可见再酯化反应的高转化率具有一定的技术壁垒。与以 TG 含量低(64.09%)的 rTG 型鱼油为原料制成的产品相比,以 TG 含量高(90.80%)的 rTG 型鱼油为原料制成的产品酸值和过氧化值相对原料变化较小,且加速氧化过程中,酸值变化小。因此,rTG 型鱼油产品的稳定性可能与 TG 含量有关,TG 含量高的 rTG 型鱼油的稳定性比 TG 含量低的好。

基于安全性和稳定性的考虑,除《保健食品原料目录 鱼油》技术要求规定的指标外,建议增加 TG、EE、3-氯丙醇酯、缩水甘油酯等指标的监控,制订更全面的鱼油原料质量标准。

参考文献:

[1] 刘玉军. 鱼油廿碳五烯酸和廿二碳六烯酸的生物效应与

(上接第 65 页)

- [22] 郑淑容. 我国居民油脂摄入现状及对健康的影响[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(9): 84-88.
- [23] 苏畅, 张兵, 王惠君, 等. 2015 年中国十五省(区、市) 18~64 岁居民膳食脂肪摄入状况分析[J]. 营养学报, 2019, 41(2): 118-121.
- [24] YANG L, YANG C Q, LI C Y, et al. Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants[J]. Sci Bull, 2016, 61(1): 3-17.
- [25] 吕仁龙, 丁兰兰, 李茂, 等. β -胡萝卜素在反刍动物营养中应用的研究进展[J]. 动物营养学报, 2019, 31(9): 3936-3943.

作用机理[J]. 生理科学进展, 1987(3): 230-235.

- [2] 沈珠军. 鱼油和 ω -3 多不饱和脂肪酸在冠心病防治中的作用[J]. 中华临床营养杂志, 2012, 20(6): 336-344.
- [3] 王谷亮, 赵光胜, 宋代军, 等. 鱼油对某些心脑血管疾病危险因子的作用[J]. 中华内科杂志, 1992, 31(4): 209-212, 254.
- [4] MACKAY D. A comparison of synthetic ethyl ester form fish oil vs. natural triglyceride form[DB/OL]. [2022-11-11]. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:26919802>.
- [5] 国家市场监督管理总局 国家卫生健康委员会 国家中医药管理局关于发布辅酶 Q₁₀等五种保健食品原料目录的公告[EB/OL]. (2020-12-01) [2022-11-11]. https://www.samr.gov.cn/tssps/zcwj/art/2023/art_f22954c667fc400abddd0b7ece6155a6.html.
- [6] SCHUCHARDT J P, HAHN A. Bioavailability of long-chain ω -3 fatty acids[J]. Prostag Leukotr Ess, 2013, 89(1): 1-8.
- [7] YANG L Y, KUKSIS A, MYHER J J. Lipolysis of menhaden oil triacylglycerols and the corresponding fatty acid alkyl esters by pancreatic lipase *in vitro*: A reexamination[J]. J Lipid Res, 1990, 31(1): 137-147.
- [8] DYERBERG J, MADSEN P, MØLLER J M, et al. Bioavailability of marine n -3 fatty acid formulations[J]. Prostag Leukotr Ess, 2010, 83(3): 137-141.
- [9] 晁红娟, 吕红萍, 叶双明, 等. 高效液相色谱-示差折光检测器检测鱼油甘油酯含量[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(12): 170-175.
- [10] 张欢欢, 杜芳岭, 陈立勇, 等. 甘油二酯热氧化稳定性的初步研究[J]. 营养学报, 2017, 39(3): 299-303.
- [11] SULLIVAN RITTER J C, BUDGE S M, JOVICA F, et al. Oxidation rates of triacylglycerol and ethyl ester fish oils[J]. J Am Oil Chem Soc, 2015, 92(4): 561-569.
- [12] 刘春艳, 李昌模, 若文靓, 等. 加热过程甘油二酯油和调和油的氧化稳定性评价[J]. 粮油食品科技, 2012, 20(2): 15-18.
- [26] LI L, ZHOU Y F, LI Y L, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidative and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Cortex dictamni*[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(16): 2912-2927.
- [27] 段娟, 张松波. 维生素 E 在慢性病治疗中的研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(28): 178-181.
- [28] 范凯, 宋敏, 彭斯伟, 等. 维生素 E 在骨质疏松症中的影响机制及研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(8): 1218-1222.
- [29] 王恬. 植物甾醇的性质、功能及其在动物生产上的应用[J]. 饲料工业, 2018, 39(20): 1-10.