

气相色谱内标法测定深海鱼油中的 EPA 和 DHA

庄俊钰^{1,2,3}, 冯志强^{2,3}, 谢忠阳^{2,3}

(1.华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510641) (2.广东省食品质量监督检验站, 广东广州 510308)

(3.广东省食品工业公共实验室, 广东广州 510308)

摘要: 用氢氧化钾—甲醇酯化法将深海鱼油中的脂肪酸快速、有效地转化成脂肪酸甲酯, 用毛细管气相色谱法进行测定, 以二十三碳酸脂肪酸甲酯为内标, 建立 EPA 和 DHA 的定量分析方法。该法对 EPA、DHA 的相对标准偏差分别为 3.6% 和 3.2%, 回收率分别为 99.3% 和 101.6%。

关键词: 深海鱼油; EPA; DHA; 气相色谱; 内标法

中图分类号: TS201.2; 文献标识码: A; 文章篇号:1673-9078(2009)11-1363-03

Determination of EPA and DHA in Deep Sea Fish Oil by Gas Chromatography using Internal Standard Method

ZHUANG Jun-yu^{1,2,3}, FENG Zhi-qiang^{2,3}, XIE Zhong-yan^{2,3}

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

(2. Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, Guangzhou 510308, China)(3. Guangdong Provincial Food Industry Public Laboratory, Guangzhou 510308, China)

Abstract: Fatty acids in deep sea fish oils were methylated with KOH-CH₃OH solution. The obtained fatty acid methyl esters were determined by gas chromatograph and quantified by internal standard C23:0 methyl ester. The RSD values of the method for the determination of EPA and DHA were 3.6% and 3.2%, respectively. And the recoveries of EPA and DHA were 99.3% and 101.6%, respectively.

Key words: deep sea fish oil; EPA; DHA; gas chromatography; internal standard method

脂肪由饱和、多不饱和、不饱和和单不饱和脂肪酸组成。EPA 和 DHA 是两种多不饱和脂肪酸, 根据它们化学结构含碳的多少, 也叫二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸。EPA 和 DHA 是组成磷脂、胆固醇酯的重要脂肪酸。EPA、DHA 的体内来源是 α -亚麻酸。 α -亚麻酸进入人体后, 在同一种去饱和酶的作用下, 在人体中衍生为 EPA 和 DHA, α -亚麻酸和 EPA 与 DHA 均属于 Omega-3 脂肪酸^[1]。许多科学家研究证明: Omega-3 有益于预防和治疗冠心病、糖尿病、类风湿、皮炎、癌症、抑郁症、神经分裂症、痴呆、过敏、哮喘、肾病和慢性阻塞性肺病等^[2-3]。鱼油中因富含具有重要生理功能的 DHA (二十二碳六烯酸)、EPA (二十碳五烯酸), 近年来引起国内外广泛重视。随着消费者需求量的不断增加, 市场上鱼油制品层出不穷, 但其有效成分 EPA、DHA 含量存在较大差异, 因此, 建立鱼油制品中 EPA 与 DHA 的快速检测方法, 识别假

收稿日期: 2009-06-24

作者简介: 庄俊钰 (1981-), 女, 工程师, 在职硕士生, 主要从事食品安全检验与质控工作

冒产品, 具有一定的意义。

1 实验部分

1.1 仪器及材料

HP 5890 II 气相色谱仪 (附氢火焰离子化检测器)

1.2 色谱条件

色谱柱: Alltech EC-1000, 30m×0.25mm×0.25μm; 色谱柱温度: 198 °C 恒温 3 min, 以 10 °C/min 升温至 248 °C, 维持 12 min; 进样口温度: 280 °C; FID 检测器温度: 280 °C; 进样方式: 分流, 分流比 30:1; 进样量: 1μL; 载气: 氮气。

1.3 试剂

EPA/DHA 甲酯标准品(纯度≥99%), 内标物——二十三碳酸甲酯标准品(纯度≥99%), 均购于美国 SIGMA 公司。2 mol/L 氢氧化钾—甲醇溶液。正庚烷、甲醇均为色谱纯、氢氧化钾为分析纯。

1.4 操作步骤

1.4.1 标准溶液制备

DHA 甲酯、EPA 甲酯、二十三碳酸甲酯标准样

品：均配制成浓度为 1.0 mg/mL 的正庚烷溶液。

1.4.2 样品制备^[4]

称取试样 500 mg 至具塞试管中，用移液管移取 5 mL 正庚烷溶解试样，用移液管移取 2 mL 氢氧化钾—甲醇溶液，盖上玻璃盖猛烈振摇 1 min 后，加蒸馏水至试管颈部，置于离心机以 3000 r/min 离心 5 min，移取 2 mL 上清液至具塞试管，加入 2 mL 内标液，定容至 10 mL，供上机测定。以标准品保留时间定性，由相对质量校正因子来定量计算鱼油样品中的 EPA 和 DHA 含量。

1.4.3 结果计算

对所得的色谱图，以内标法进行结果计算：

$$EPA \text{、} DHA (\text{mg/g}) = \frac{A_x W_{IS} F_x}{A_{IS} W_s F_w} \times 25 \times 1000$$

式中：A_x—EPA、DHA 的峰面积；A_{IS}—内标峰的峰面积；F_x—EPA 或 DHA 的校正因子；W_{IS}—样品中内标物的加入量 (mg)；W_s—样品量 (mg)；F_w—EPA、DHA 甲酯换算成 EPA、DHA 的换算因子，EPA=1.105，DHA=1.096；25—样品前处理过程中稀释倍数。

2 结果讨论

2.1 样品前处理方法的选择

油脂中脂肪酸的测定通常需要甲酯化处理，常用的甲酯化方法有三氟化硼法、三甲基氢氧化硫 (TMSH) 法、甲醇钾法、重氮甲烷、盐酸/甲醇、硫酸/甲醇和氢氧化四甲胺/甲醇等^[5]。本文主要用氢氧化钾/甲醇法，针对性检测鱼油制品中的 EPA 与 DHA，该法具有操作简单、快捷的特点。

2.2 EPA 甲酯和 DHA 甲酯的色谱分离

深海鱼油样品加入内标 C_{23:0} 甲酯的气相色谱图见图 1。

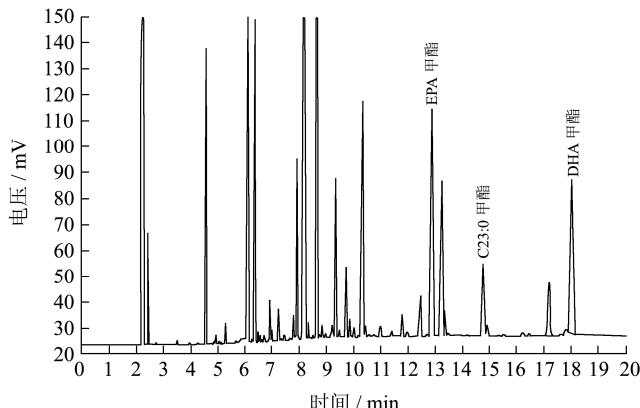


图 1 深海鱼油样品的气相色谱图

Fig.1 Gas chromatogram of deep sea fish oil

由图 1 可见，EPA 甲酯、DHA 甲酯和 C_{23:0} 甲酯

的保留时间分别为 12.898 min、18.052 min、14.785 min，三种脂肪酸甲酯分离良好，并且其余组分不干扰测定。

2.3 校正因子的测定

采用内标法测得 EPA 甲酯和 DHA 甲酯对内标 C_{23:0} 甲酯的相对质量校正因子，结果见表 1。

表 1 EPA 甲酯和 DHA 甲酯对内标 C_{23:0} 甲酯的相对质量校正因子

Tab.1 The relative weight correction factor of EPA, DHA methyl ester and internal standard C_{23:0} methyl ester

序号	1	2	3	4	5	RSD/%
EPA 甲酯	0.975	0.969	0.99	0.97	0.98	0.71
DHA 甲酯	1.35	1.355	1.37	1.34	1.35	0.6

2.4 方法精密度

取同一深海鱼油样品 5 份，按 1.4.2 所述步骤测定，1.4.3 定量分析，得 EPA 和 DHA 的精密度，结果见表 2。

表 2 深海鱼油样品中 EPA 和 DHA 的分析精密度

Tab.2 The precision of the method for detection of EPA and DHA in deep sea fish oil

项目	平均值 相对标准						
	测定值/(mg/g) / (mg/g) 偏差/%						
EPA	86.01	80.64	82.96	87.47	81.25	83.7	3.6
DHA	103.43	104.49	101.91	110.51	103.21	104.7	3.2

2.5 EPA 和 DHA 的回收率

于 100 mg 的深海鱼油样品中分别精确加入一定量的 EPA 和 DHA，按 1.4.2 所述步骤测定，1.4.3 定量分析，进样次数为 5 次，测定结果见表 3。

表 3 EPA 和 DHA 的回收率

Tab.3 Recoveries of EPA and DHA added to a deep sea fish oil

项目	sample		
	加入量 / (mg/g)	实测值 / (mg/g)	回收率 / %
EPA	20.0	18.9	94.5
	40.0	39.8	99.5
	60.0	62.3	103.8
DHA	15.0	15.2	101.3
	30.0	29.9	99.7
	50.0	51.9	103.8

2.6 样品测定

对 3 种市场上销售的深海鱼油样品进行测定，测定结果见表 4。由表 4 可知，样品 1 中 EPA、DHA 含量比标称数据明显偏低，样品 2、3 中 EPA、DHA 含量与标称数据基本吻合。

表 4 深海鱼油中 EPA 和 DHA 的测定结果

Tab.4 The contents of EPA and DHA in deep sea fish oil sample

样品编号	EPA(10^{-2} mg/g)		DHA(10^{-2} mg/g)	
	标示值	实测值	标示值	实测值
1	4882	3857	8330	6572
2	7505	8064	9722	10449
3	3988	4262	6666	7116

3 结论

内标法是气相色谱当中一种比较理想的定量方法，它要求内标物与被分析物质的化学性质要相似，而对操作条件要求不高，内标法是测定脂肪酸含量的方便准确的定量方法。一般文献通常使用 C_{17:0} 等单饱和脂肪酸甲酯作为测定脂肪酸的内标物^[6]，其保留时间与 EPA 和 DHA 的保留时间相差较大。笔者使用二十三碳饱和脂肪酸甲酯作为测定 EPA、DHA 的内标物，其性质和 EPA、DHA 相近，保留时间位于两者之间，并且通过不同鱼油样品的分析，试样中完全不含有 C_{23:0}，不受试样中其它组分峰的影响，能满足准确

(上接第 1354 页)

量人力物力，取得明显的经济效益。

4.2 提高了企业竞争力

提高了潮式酥肉松生产企业的市场竞争力，提高企业的经济效益。企业生产的产品有了标准作依据，产品质量能符合要求，能够得以合法、正常销售，增加企业产值产量，提高企业经济效益。全省按 100 家企业，每家企业年产值平均 500 万元，年利润 100 万元计，则全省年产值可达 5 亿元，年利润可达 1 亿元。

4.3 规范了企业行为

规范了潮式酥肉松生产企业，促进企业产品质量提高。每家潮式酥肉松生产企业的产品都以本项目的标准作为组织生产的依据，使生产出来的产品都满足标准的要求，从而规范了潮式酥肉松生产企业，促进企业产品质量提高，有助于提高潮式酥肉松行业的竞争力和市场地位，促进该产业持续、快速、健康发展。

4.4 维护了市场秩序

潮式酥肉松生产企业的产品有了标准作为组织生产的依据，供经销商、消费者以该标准作为质量合格与否验收的依据，从而保护了消费者的利益，维护了市场经济秩序，有利于带动相关服务业的发展。

4.5 有利于提高畜牧业的经济效益

潮式酥肉松的主要原料是猪肉，潮式酥肉松生产

测定 EPA 和 DHA 的要求。

参考文献

- [1] Mori T A, et al. Effect of omega 3 fatty acids on oxidative stress in humans: GC-MS measurement of urinary F2-isoprostane excretion [J]. Redox Report, 2000, 5(1): 45-46.
- [2] Kidd P M. Omega-3 DHA and EPA for cognition, behavior, and mood: clinical findings and structural-functional synergies with cell membrane phospholipids [J]. Alternative Medicine Review, 2007, 12(3): 207-227.
- [3] 郝颖, 汪之和. EPA、DHA 的营养功能及其产品安全性分析 [J]. 现代食品科技, 2006, 22(3): 180-183
- [4] GB/T 17376-2008/ISO 5509:2000. 动植物油脂 脂肪酸甲酯制备[S].
- [5] 吴伟都, 金世梅, 朱慧. 气相色谱内标法测定奶粉及乳饮料中的 DHA 和 EPA[J]. 中国食品添加剂, 2005, (1): 106-108.
- [6] 沈崇钰, 曹锡忠, 杨惠萍, 吴斌. 深海鱼油中 EPA、DHA 的快速测定方法[J]. 食品科技, 2000, (6): 56-57.

企业的产品能得以正常销售，则需要大量的猪肉等原料，从而带动农民养猪的积极性，提高了养猪户的经济效益，有利于畜牧业的发展，繁荣农村经济。

5 存在问题及今后意见

潮式酥肉松地方标准的成功研制，它将有助于企业扩大生产规模，提高经济效益，产生良好社会效益。目前存在的主要问题及改进意见是：

(1) 由于目前潮式酥肉松生产企业存在家庭作坊式等小型企业较多的实际，生产能力受限制，标准的宣贯、执行还不到位，部分生产企业还不能很好地执行该标准，质量难以满足标准的要求，难以扩大生产规模。

(2) 要不断加强标准的宣贯力度，不断加强产品质量的监测与管理，督促小型企业充实完善生产设备和检测仪器，提高产品在市场的信誉和竞争力。

参考文献

- [1] GB2726-2005. 熟肉制品卫生标准. 北京: 中国标准出版社
- [2] GB2760-2007. 食品添加剂使用卫生标准. 北京: 中国标准出版社
- [3] SB/T 10281-2007. 肉松. 北京: 中国标准出版社