

# $^{13}\text{C}$ 核磁共振技术测定鱼肝油中 $\omega$ -3脂肪酸 $\alpha(1,3)$ -酰基和 $\beta(2)$ -酰基的位次分布

李煜, 张淼, 吴冬燕, 钱建钦, 陈悦\* (浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052)

**摘要:** 目的 应用 $^{13}\text{C}$ 核磁共振( $^{13}\text{C}$ -NMR)光谱测定鱼肝油中 $\omega$ -3脂肪酸[十八碳四烯酸(C18:4 n-3, moroctic acid, MA)、二十碳五烯酸(C20:5 n-3, eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸(C22:6 n-3, docosahexaenoic acid, DHA)]形成的甘油三酯中 $\alpha(1,3)$ -酰基、 $\beta(2)$ -酰基的位次分布。方法 用 $\text{CDCl}_3$ 溶解样品, 利用高分辨核磁共振光谱直接测定。结果 鱼肝油中 MA、EPA 和 DHA  $\alpha(1,3)$ -酰基、 $\beta(2)$ -酰基在 $\delta$  171.5~173.5 ppm 的化学位移与文献报道基本一致。2 批次鱼肝油未发现上述 $\omega$ -3 脂肪酸特征峰, 4 批次鱼肝油有特征峰检出, 但是 $\beta(2)$ -酰基的位次分布不同。按照 $\beta(2)$ -酰基的比例, 4 批次鱼肝油来源于家养鱼类提取的可能性较大。结论 应用该 $^{13}\text{C}$ 核磁共振技术可以鉴别鱼肝油的优劣, 方法简单、快捷。

**关键词:**  $^{13}\text{C}$ 核磁共振;  $\omega$ -3 脂肪酸;  $\alpha(1,3)$ -酰基;  $\beta(2)$ -酰基; 位次分布

中图分类号: R917.101 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2017)11-1582-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.11.018

引用本文: 李煜, 张淼, 吴冬燕, 等.  $^{13}\text{C}$ 核磁共振技术测定鱼肝油中 $\omega$ -3 脂肪酸 $\alpha(1,3)$ -酰基和 $\beta(2)$ -酰基的位次分布[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(11): 1582-1584.

## Position Distribution Study of $\alpha(1,3)$ -acyl and $\beta(2)$ -acyl of $\omega$ -3 Fatty Acids in Cod Liver Oil by $^{13}\text{C}$ -NMR

LI Yu, ZHANG Miao, WU Dongyan, QIAN Jianqin, CHEN Yue\* (Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310052, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** The position distribution  $\alpha(1,3)$ -acyl and  $\beta(2)$ -acyl of  $\omega$ -3 fatty acids [moroctic acid (C18:4 n-3, MA), eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3, EPA) and docosahexaenoic acid(C22:6 n-3, DHA)] in the form of triacylglycerols in cod liver oil have been examined by  $^{13}\text{C}$ -NMR. **METHODS** The samples were directly determined with dissolving in  $\text{CDCl}_3$  by high resolution  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy. **RESULTS** The  $^{13}\text{C}$  NMR-derived data of the position distribution  $\alpha(1,3)$ -acyl and  $\beta(2)$ -acyl for MA, EPA and DHA in  $\delta$  171.5~173.5 ppm were consistent with corresponding data reported in the literature. The characteristic peaks of  $\omega$ -3 fatty acids in two batches cod liver oil were not detected, but that were measured in four batches of cod liver oil with different the position distribution [ $\beta(2)$ -acyl]. According the ratio of the position distribution [ $\beta(2)$ -acyl], the more possibility of extracting from farmed fish in four batches of cod liver oil was found. **CONCLUSION** The method of  $^{13}\text{C}$ -NMR is simple and quick, which can identify good or bad quality of cod liver oil.

**KEY WORDS:**  $^{13}\text{C}$ -NMR;  $\omega$ -3 fatty acids;  $\alpha(1,3)$ -acyl;  $\beta(2)$ -acyl; position distribution

鱼肝油是一种营养补充剂, 是从鱼类肝脏提取出来的主要含有天然维生素 A 类和维生素 D 类脂溶性维生素、二十二碳六烯酸(DHA)和二十碳五烯酸(EPA)等 $\omega$ -3 不饱和脂肪酸等多种天然化合物的脂肪油<sup>[1]</sup>。它既能预防夜盲症, 帮助钙的吸收, 有利于骨骼的形成, 还能增强免疫功能。早在 1963 年就已收载于中国药典。传统认为鱼肝油是从野生鱼类提取出来的, 但是由于鱼类的过度捕捞造成鱼类资源的匮乏, 人工养殖的鱼类提取的鱼肝油也在冲击整个市场, 造成产品的混乱。

甘油三酯(triglyceride, TG)是长链脂肪酸和甘油通过皂化反应形成的脂肪分子, 是动物内含量最多的脂类。大部分组织均可以利用甘油三酯分解产物供给能量, 同时肝脏、脂肪等组织还可以进行甘油三酯的合成, 在脂肪组织中贮存。图 1 是甘油三酯的费歇尔投影式, 将位次 1 和 3 称为 $\alpha$ 位, 位次 2 称为 $\beta$ 位。脂肪酸在与甘油结合成甘油三酯的过程中, 脂肪酸可选择性地结合在不同位次。自然界中 DHA 和 EPA 主要来源于陆地植物和海洋生物, 主要以甘油三酯的形式存在于海产

基金项目: 国家药品抽检(中央补助地方经费项目)项目

作者简介: 李煜, 女, 博士, 副主任药师 Tel: (0571)87180340  
Tel: (0571)87180340 E-mail: zidccy@163.com

E-mail: yuli113@126.com \*通信作者: 陈悦, 男, 硕士, 主任药师

鱼贝类，尤其是鱼肝油和鱼油中。根据文献的报道<sup>[2-3]</sup>，野生鱼类甘油三酯中 EPA、十八碳四烯酸 (C18:4 n-3, moroctic acid, MA)更倾向于结合在 2 位，而 DHA 主要占据 1 和 3 位。相反，来自于家养鱼类甘油三酯中 EPA、MA 更倾向于结合在 1 和 3 位，而 DHA 主要占据 2 位。

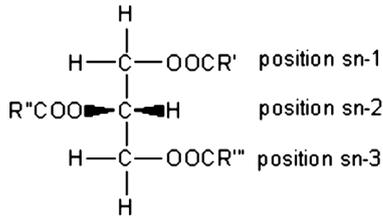


图 1 甘油三酯的费歇尔投影式  
Fig. 1 Fischer projection of a triacylglycerol

据此特点，利用 <sup>13</sup>C 核磁共振技术进行测定，了解脂肪酸的位次结合情况。本研究着重关注 3 个脂肪酸(由于它们的含量相对较高)，即 DHA (C22:6)、EPA (C20:5)和 MA (C18:4)，为鉴别鱼肝油是提取自家养鱼类还是野生鱼类提供方法，大幅提高鱼肝油的质量。

### 1 仪器与试剂

500M 型核磁共振仪(德国布鲁克公司); Mettler XPE 205 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); 氘代氯仿(Dareal Chemical 公司)，样品信息见表 1。

### 2 方法与结果

#### 2.1 供试品溶液的制备

称取约 190~210 mg 供试品，溶解至氘代氯仿中，配制 3 d 内测定。

表 1 鱼肝油样品信息

Tab. 1 The sample information of cod liver oil

| 编号   | 批号        | 规格                    | 来源  |
|------|-----------|-----------------------|-----|
| YGY1 | 1603042   | A 1 500 / D 150*      | A 厂 |
| YGY2 | 20751101  | A 1 500 / D 150       | B 厂 |
| YGY3 | 73448801  | A 2 664 / D 200       | C 厂 |
| YGY4 | 288946-os | A 425~1 500 / D 1 000 | D 厂 |
| YGY5 | 150801    | A 1 500 / D 150       | E 厂 |
| YGY6 | 150901    | A 3 000 / D 300       | E 厂 |

注: \*每 1 g 含维生素 A 1 500 单位与维生素 D 150 单位, 下同。  
Note: \*1 g contains vitamin A 1 500 units and vitamin D 150 units, the same below.

#### 2.2 试验条件

扫描带宽为 200 ppm (-5~195 ppm); 照射频率偏移为 95 ppm; 时域为 64 k; 脉冲延迟为 2 s; 脉冲程式为 zgig 30 (逆封闭, 激发脉冲); 虚拟扫描为 4; 扫描次数为 4 096。

#### 2.3 结果

6 批样品测定结果显示, 4 批有  $\alpha$ -DHA、 $\beta$ -DHA、 $\alpha$ -EPA、 $\beta$ -EPA、 $\alpha$ -MA、 $\beta$ -MA 特征峰的检出, 这 6 个特征峰的化学位移值分别为 172.43~172.47 ppm, 172.05~172.09 ppm, 172.90~172.94 ppm, 172.52~172.56 ppm, 172.95~172.99 ppm, 172.56~172.60 ppm, 与参考图谱(EP 8.0)和文献[4]一致。参考图谱和测定图谱见图 2。

对有特征峰检出的 4 批样品进行积分处理, 根据公式  $\frac{100 \times \beta}{\alpha + \beta}$  计算  $\beta$  2 位被酰化的比例。结果显示, 4 批鱼肝油来源于家养鱼类提取的可能性较大, 结果见表 2。

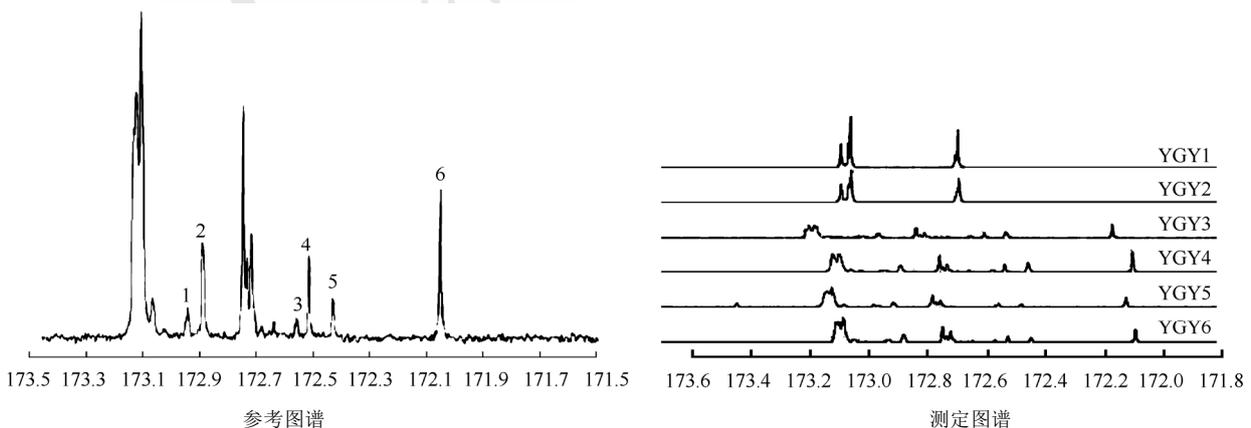


图 2 参考图谱和测定图谱  
注: 1- $\alpha$ -MA; 2- $\alpha$ -EPA; 3- $\beta$ -MA; 4- $\beta$ -EPA; 5- $\alpha$ -DHA; 6- $\beta$ -DHA。  
Fig. 2 Reference graph and determination graph  
Note: 1- $\alpha$ -MA; 2- $\alpha$ -EPA; 3- $\beta$ -MA; 4- $\beta$ -EPA; 5- $\alpha$ -DHA; 6- $\beta$ -DHA.

表 2  $\beta$ 2 位被酰化的比例Tab. 2 The ratio of  $\beta$ 2 location by acylation

| 碳信号           | 峰面积  |      |      |       | 计算结果/% |      |      |      | 限度/% <sup>[4]</sup> |
|---------------|------|------|------|-------|--------|------|------|------|---------------------|
|               | YGY3 | YGY4 | YGY5 | YGY6  | YGY3   | YGY4 | YGY5 | YGY6 |                     |
| $\alpha$ -MA  | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.00  |        |      |      |      |                     |
| $\beta$ -MA   | 0.59 | 0.46 | 0.58 | 1.45  | 37.1   | 31.5 | 36.7 | 59.2 | 28~38               |
| $\alpha$ -EPA | 2.59 | 2.02 | 3.36 | 7.07  |        |      |      |      |                     |
| $\beta$ -EPA  | 1.57 | 0.92 | 2.24 | 4.48  | 37.7   | 31.3 | 59.4 | 38.8 | 32~40               |
| $\alpha$ -DHA | 1.20 | 0.88 | 3.57 | 8.24  |        |      |      |      |                     |
| $\beta$ -DHA  | 3.73 | 2.12 | 5.22 | 11.09 | 75.7   | 70.7 | 40.0 | 57.4 | 71~81               |

### 3 讨论

现行中国药典 2015 年版二部在引言部分表明鱼肝油可以勾兑而成, 相应的标准对鱼肝油是否天然没有任何的管控项目。国外药典中鱼肝油系自鲛类、鳕科类、鲭科类等无毒海鱼新鲜肝脏中提取的纯脂肪油; 中国药典中鱼肝油系自鲛类动物等无毒海鱼肝脏中提出的一种脂肪油, 用精炼食用植物油、浓度较高的鱼肝油或维生素 A 与维生素 D<sub>3</sub> 调节浓度而成。两者相比, 我国的鱼肝油可以称为“调和型鱼肝油”。

本研究中有 2 批鱼肝油没有特征峰检出, 这可能是因为 DHA、EPA 和 MA 的含量较低, 与甘油的结合较少的缘故。

$\alpha$ -DHA、 $\beta$ -DHA、 $\alpha$ -EPA、 $\beta$ -EPA、 $\alpha$ -MA 和  $\beta$ -MA 6 个特征峰可能成为调和鱼肝油和天然鱼肝油的鉴别依据, 笔者正在进一步研究中。

$\beta$ (2)-酰基的位次分布可对鱼肝油提取自家养

鱼类和野生鱼类进行判定。

与发达国家相比, 我国的鱼肝油至今仍为低水平产品。因此, 提高鱼肝油的质量标准, 开发适合我国国情的鱼肝油系列产品, 将会获得可观的经济效益和社会效益。

### REFERENCES

- [1] CURTIS C L, HARWOOD J L, DENT C M, et al. Biological basis for the benefit of nutraceutical supplementation in arthritis [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9(4): 165-172.
- [2] INGER B S, ANGELIKA P, LESLEY M, et al. Discrimination of cod liver oil according to wild/farmed and geographical origins by GC and <sup>13</sup>C NMR [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2008, 85(2): 105-112.
- [3] ERICK R S, PAUL F M, ALFRED J R, et al. <sup>13</sup>C-NMR regioisomeric analysis of EPA and DHA in fish oil derived triacylglycerol concentrates [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2010, 87(12): 1425-1433.
- [4] E.P (8.0) [S]. 2016: 1946-1950.

收稿日期: 2017-02-10

(本文责编: 蔡珊珊)