

淡水鱼油中多烯脂肪酸的提取纯化及 药用质量标准的初步研究

中国药科大学中药研究所(南京 210038) 周千南*

南京药物研究所 张康宣 蔡 鸣 胡芝华

摘 要 研究了以 3 种淡水鱼(鳊、草、鲢鱼)的内脏鱼油中提取及纯化多烯脂肪酸(PUFA)的工艺,其药用质量标准拟参照鱼脂酸质量标准制定。

关键词 淡水鱼 鱼油 多烯脂肪酸 质量标准

海鱼鱼油中含有丰富的多烯脂肪酸(PUFA),其主要活性成分为二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸(EPA 和 DHA),它们具有降低血中胆固醇和甘油三酯的功效,已被称为人体必需脂肪酸。多种富含 PUFA 的鱼油制品已作为药品和保健品被广泛应用,目前国内外研制的鱼油原料主要来自海鱼,有关对淡水鱼鱼油的研究刚刚开始,尚未见涉及药用方面的论文。我国淡水鱼资源十分丰富,其产量居世界首位,淡水鱼肌肉部分仅占 30%~50%,副产物却占 50%~70%,据报道,每加工 10000t 鱼可得到 2000t 鱼骨鱼内脏等废弃物,并可从中提取出约 200t 鱼油^[1],因此,研究从淡水鱼内脏中提取 PUFA 加以药用,无疑会产生巨大的社会效益及经济效益。本文初步探讨了淡水鱼内脏鱼油中 PUFA 的提取纯化工艺及其药用质量标准的制定。

1 材料与仪器

原料:市售鳊鱼、草鱼、鲢鱼的内脏(除去胆囊),购于 3 月份,新鲜或冰冻数日使用。化学试剂均为 AR。阿贝折光仪:WZS-1 上海光学仪器厂。

2 方法与结果

2.1 粗鱼油的提取

2.1.1 方法^[2]:将收集的 3 种淡水鱼内脏分

别剪碎,搅拌均匀,称取 100g,加半倍量水,用 40%KOH 溶液调 pH 至一定值,搅拌下加热到一定温度,保温 45min,加定量食盐,搅拌继续保温 15min,趁热离心,分离出上层油液得粗鱼油。收率=(鱼油重/内脏重)×100%。结果见表 1。

2.1.2 3 种粗鱼油提取工艺的正交试验:经预试验后得知,影响粗鱼油收率的主要因素为 pH 值、保温温度及加入的食盐量,为此需通过正交试验求出最佳工艺条件。确定以此三项为三因子,分别取二水平为 pH=8,9;温度 80℃,90℃;食盐量 4%,5%,选用 L₄(2³)正交表,以收率为比较标准,结果见表 1。

表 1 提取 3 种粗鱼油的最佳工艺条件及收率

	pH 值	温度 (℃)	食盐量 (%)	收率 (%)	色泽	腥味
鳊鱼	8	90	4	39.6	淡黄	正常
草鱼	8	80	5	32.5	黄绿	淡
鲢鱼	8	90	4	18.0	桔黄	正常

2.2 粗鱼油的纯化^[3]

2.2.1 混和脂肪酸的制备:取这 3 种鱼的粗鱼油各 60g,分别溶入 2%KOH 的醇溶液中,充氮回流 15min,减压回收乙醇后放冷,用适量石油醚萃取,再用 30%~40%硫酸酸化,使 pH 约为 3,分出油层,水洗,减压回收残留

* Address: Zhou Gannan, Institute of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing

的乙醇即得混和脂肪酸。

2.2.2 纯 PUFA 的制备:将上步所得的混和脂肪酸加入到 15 倍 2%KOH 乙醇溶液中,搅拌使溶液澄明,置低温冰箱中放置 24h,过滤除去胶状析出物,滤液减压回收部分乙醇,余液加少量水,用酸酸化,分出油层,干燥 24h 得纯 PUFA,密闭低温保存。收率=(纯 PUFA 重/粗鱼油重)×100%。结果如下:鳊鱼 47%,草鱼 47%,鲢鱼 44%(n=4)。

2.3 PUFA 的质量标准:目前对淡水鱼油的研究处于开始阶段,PUFA 作为药用的质量标准暂无据可依,我们以上海市药品标准^[4]中鱼脂酸(海鱼油)的质量标准为参照,进行 3 种淡水鱼油的质标考察。

2.3.1 性状比较:鳊、草、鲢 3 种淡水鱼的纯 PUFA 的性状与鱼脂酸相符,均为澄清油状液体,有特异的鱼腥臭(草鱼较淡),无哈喇味,在 10℃放置 30min 无固体析出,在无水乙醇、氯仿、乙醚中混溶,水中几乎不溶。但它们的色泽有所不同:鳊鱼为黄色,草鱼为黄绿色,鲢鱼为桔黄色,鱼脂酸应为淡红或棕红色。

2.3.2 相对密度、酸价、碘价、折光率、EPA 和 DHA 的含量等指标的比较:结果见表 2。

表 2 3 种淡水鱼 PUFA 与鱼脂酸有关参数的比较

	鳊鱼	草鱼	鲢鱼	鱼脂酸
相对密度	0.8980	0.8980	0.9030	0.9097~0.9148
酸价	202	204	203	>180
碘价	199	206	208	>185
水分及挥发物(%)	0.06	0.02	0.03	<0.1
折光率	1.4670	1.4676	1.4720	/
EPA+DHA	1.651	0.741	6.515	/
鉴别	红→棕红	红→棕红	红→棕红	红→棕红

“/”为原标准无此项参数
鉴别按文献^[4]操作,EPA、DHA 含量按文献^[5]完成,其余各项按中国药典 1990 版一部附录完成。

3 讨论与小结

3.1 提取粗鱼油的正交试验:在大多数情况下,鱼油脂肪酸是以脂肪酸甘油酯的形式出现的,众所周知,酯的水解反应在碱性条件及

一定温度下才能加速进行。由于构成淡水鱼油的脂肪酸各不相同,约有 18 种脂肪酸构成^[6],水解的条件也各有差异,因此,通过正交试验来求出各自的最佳条件是必要的。结果表明:在提取粗鱼油时,这 3 种鱼的 pH 值都可以控制在 8,所不同的是温度与加入的食盐量略有差异,作者认为,在某种鱼加工量很大时,其提取条件可以参照最佳条件进行,同时有数种鱼而每种鱼的数量不大时,可根据原料的比例,适当调整条件进行混合提取。
3.2 鱼油的收率:鱼油的收率可由二个工艺过程来衡量。一是粗鱼油的收率,二是纯 PUFA 的收率。关于粗鱼油收率,文献^[7]报道,采用隔水蒸煮法,鳊鱼为 26.9%,草鱼为 27.7%,鲢鱼为 18.3%。与本实验相比,除鲢鱼收率接近外,鳊草鱼均较低。作者认为,不能据此认为蒸煮法收率低,因为内脏原料的含油量受鱼种、产地、季节等因素影响很大,必须采用同一原料用两种方法做对比试验才能作出科学结论。关于纯 PUFA 的收率,本实验的结果与文献^[3]所报道的海鱼油纯 PUFA 的收率 47%相近。

3.3 质量标准:作为药用鱼油,目前为止仅有鱼脂酸收录于上海市药品标准^[4]。但是鱼脂酸来源于海水鱼。根据文献^[1]的研究,海水鱼与淡水鱼内脏油的脂肪酸组成基本相似,不饱和脂肪酸约占脂肪酸总量的 68%~73%,其中多烯脂肪酸约占总量的 36%~40%,ω-3 系列的多烯脂肪酸约占总量的 32%~38%,两者的生理活性相同,据此,作者认为可以参照鱼脂酸的质量标准来制定淡水鱼油的质量标准,实验结果也证实淡水鱼油完全能达到这个标准。

另外,鉴于近期对 EPA 和 DHA 活性作用的认识和肯定,市场上含 EPA 和 DHA 制品的泛滥,有必要在质量标准中增加这 2 种活性物质含量的规定。

从目前的研究可知^[1],尽管淡水鱼中 EPA 与 DHA 的含量较海鱼低,但是它的亚油酸和亚麻酸这两种必需脂肪酸的含量很丰

富,分别达到 3.0%~12.1%和 4.2%~9.7%。作者建议在质量标准中增加“折光率”一项,以保证淡水鱼油中的不饱和脂肪酸的含量。当然,折光率和相对密度的范围还需经大量样本的测试来确定。

3.4 EPA 与 DHA 的含量:文献^[7]报道的这 3 种鱼油中 EPA 与 DHA 的含量是粗鱼油的含量,按粗鱼油到纯 PUFA 的收率是 50%计,这 3 种鱼油 EPA 与 DHA 的含量为:鳊鱼 1.68%,草鱼 1.96%,鲢鱼 27.42%。本实验中鳊鱼的 EPA+DHA 含量与之十分相近,而草鱼与鲢鱼却低得多,其原因还待研究。据(日)铃木平光报道,鳊鱼和鲤鱼中 EPA 与 DHA 的含量分别为 10.98%及 8.99%^[8],由此看来,淡水鱼油中这 2 种活性物质的含量均较低。

3.5 淡水鱼油的降胆固醇作用:经初步动物

试验,这 3 种淡水鱼油的 PUFA 的等量混合物以 2.5g/kg·d 给小鼠 ig,连续 10d,结果表明能降低食钾性高脂血症小鼠的血清总胆固醇,与对照组相比,有显著差异($P < 0.05$)。

致谢:江苏无锡第六制药厂沈婷婷等同志完成 EPA 与 DHA 含量测定,深表感谢。

参考文献

- 1 俞鲁礼,等.海洋渔业,1991,(4):158
- 2 郭学平,等.海洋药物,1988,(3):4
- 3 万新祥,等.中国海洋药物,1991,(4):12
- 4 上海市药品标准.1980 版上册.193
- 5 浙江省药品标准.1993.395
- 6 刘玉芳.水产学报,1991,(2):169
- 7 俞鲁礼,等.水产学报,1994,(3):199
- 8 铃木平光著,叶桂芬译.吃鱼健脑.北京:农业出版社,1992.120

(1996-05-14 收稿)

Preliminary Studies on the Extraction and Purification of Poly-unsaturated Fatty Acid from Fresh-water Fish Oil and its Medicinal Quality Standard

Zhou Gannan,Zhang Kangxuan,et al

Methods for the extraction and purification of poly-unsaturated fatty acid (PUFA) from visceral oil of three fresh-water fish (bream,grass carp and silver carp) were studied. It was suggested that the medicinal quality standard of PUFA could be laid down by referring to the quality standard of Acidum Morrhuicum.

参菊粉刺露质量标准的研究

山东省中医药研究所(济南 250014) 张 玲* 时廷增 徐新刚 单卫华 李昭霞

摘 要 采用薄层层析法对制剂中菊花、白芷、白鲜皮、苦参进行了定性鉴别,应用薄层扫描法对苦参碱进行了定量测定,方法简便,专属性强,重现性好,提示上法可用于对该制剂的质量检查。

关键词 参菊粉刺露 薄层层析 薄层扫描 苦参碱

参菊粉刺露由苦参、菊花、蒲公英、地肤子、防风、荆芥、白芷、白鲜皮、透骨草等 13 味

中药制成的外用涂擦剂,具有杀菌、抗炎、止痒、止痛之功效,用于男女青春期痤疮。由于

* Address: Zhang Ling,Shandong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica,Jinan