

★综述★

药品、食品中反式脂肪酸的研究进展

吕晶, 邵泓, 陈钢*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: 本文综述了反式脂肪酸的结构、来源、危害、分析方法和国外标准, 并建议对相关药品中可能存在的反式脂肪酸进行考察。

关键词: 反式脂肪酸; 危害; 检测; 药品; 食品

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)06-1051-04

Review of research on trans- fatty acids in food and drug

LÜ Jing SHAO Hong CHEN Gang*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract We had a review on the structure, origin, harmfulness, analytical methods and foreign standards of trans fatty acids and advised to determine trans fatty acids in relevant drugs.

Key words trans fatty acids; harm; determination; drug; food

油脂(TG)是动植物的主要组成部分和能量来源之一,在人体内经过分解生成甘油和脂肪酸。脂肪酸经过进一步分解,给人体提供必要的成分和能量。脂肪酸分饱和脂肪酸(SFA)和不饱和脂肪酸(UFA),饱和脂肪酸摄入过多对人体血管硬化有一定的影响,会导致心血管疾病,是一种潜在有害的脂肪酸;不饱和脂肪酸(UFA)的作用则截然相反,它可以降低血液中油脂和胆固醇(TC)含量,软化血管,预防动脉粥样硬化,常用于药品和保健品行业。但是,不饱和脂肪酸中的一种异构化的脂肪酸:反式脂肪酸(反式脂肪酸),比饱和脂肪酸的危害更大。由于各种动植物油脂是食品和药品常用添加剂和辅料之一,反式脂肪酸的长期累积摄入必将对人民健康产生不利影响。因此建立食品和药品中反式脂肪酸的标准检测方法,并由反式脂肪酸的建议摄入量,确定包装标签上的含量标识相当重要。

1 反式脂肪酸的定义、结构及命名

1.1 反式脂肪酸的定义

美国食品药品监督管理局(FDA)给反式脂肪酸下的定义是:化学结构包含一个或多个非共轭的双键的构型为反式的脂肪酸。定义中特别指明反式

脂肪酸不包括含有共轭双键的脂肪酸^[1]。FDA的大部分专家支持这个定义,因为共轭脂肪酸的代谢途径与其他含有双键的脂肪酸的代谢途径不同。另外,还有一些专家认为来自于反刍动物的反油酸(Vaccenic acid,反-C18:1 n-11)不应该包括在反式脂肪酸定义内,这种反油酸在体内的代谢过程中可以通过去饱和而转化成共轭亚油酸(CLA,有益脂肪酸,具抗肿瘤作用)^[2]。

1.2 反式脂肪酸的结构

以双键结合的不饱和脂肪酸的分子结构上可能会出现2种不同的几何异构体。若双键上2个碳原子结合的2个氢原子分别在碳链的两侧则为反式(trans)脂肪酸,其空间构象成线性,与饱和脂肪酸相似;若双键上2个碳原子结合的2个氢原子在碳链的同侧则是顺式(cis)脂肪酸,空间构象呈弯曲状,分子柔韧有弹性。顺式脂肪酸与反式脂肪酸的结构如图1所示。

1.3 反式脂肪酸的命名常用简写说明

脂肪酸的常用简写方式,以亚油酸-C18:2(c9-c12)为例,即碳原子数:不饱和双键数(双键位置及异构,如cis-顺,trans-反)。若直接从官能团

* 通讯作者 Tel: (021) 50798175 E-mail: dengang@snda.gov.cn

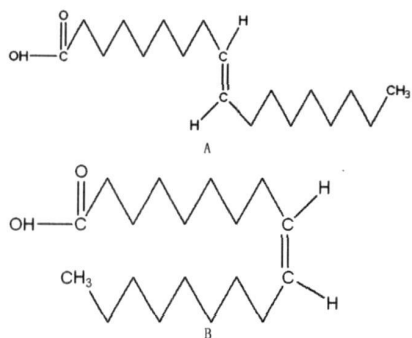


图 1 反/顺脂肪酸的结构

Fig 1 Structures of *trans/cis* fatty acidsA. 反式脂肪酸 (*trans* fatty acids) B. 顺式脂肪酸 (*cis* fatty acids)

碳端数起, 可以以上述方式表示; 除此以外, 当把其甲基端的碳作为第一位碳时, 根据在第几位的碳(数)上开始有双键存在, 可以分为 $\omega-3$ 、 $\omega-6$ 、 $\omega-9$ 系列多不饱和脂肪酸, 来区分其不同的营养学价值。此时亚油酸可记为 C18:2($\omega-6$), 即其碳数为 18, 具有 2 个双键, 从甲基碳数起, 是在第 6 位碳处出现双键。当涉及到顺反异构时, 则必须写出反式的双键位置, 如反式构型的亚油酸, 可能是 C18:2(θ , t12)、C18:2(θ , c12)或 C18:2(c9, t12)。

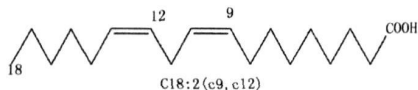


图 2 亚油酸的结构

Fig 2 Structure of linoleic acid

2 反式脂肪酸的来源

2.1 食品中反式脂肪酸的来源及存在形式

2.1.1 反刍动物(如牛、羊)的脂肪和乳与乳制品 饲料中的不饱和脂肪酸经反刍动物肠腔中的丁酸弧菌属菌群的酶促生物氢化作用, 形成反式脂肪酸。这些脂肪酸能结合于机体组织或分泌于乳汁中^[3]。

2.1.2 食用油的氢化产品 在选择性氢化过程中, 植物油脂中多不饱和脂肪酸不饱和度降低, 双键发生顺反异构和位置异构, 形成了大量的反式十八碳单烯酸和一定量的反式十八碳双烯酸^[4]。

2.1.3 油脂精炼的脱臭过程 植物油在精炼脱臭工艺中, 由于高温及长时间加热, 暴露在空气中的不饱和脂肪酸发生热聚合反应, 发生异构化, 从而有可能产生一定量的反式脂肪酸, 其主要为亚油酸和亚麻酸的顺反异构, 以单反式多不饱和脂肪酸为主, 反式单不饱和脂肪酸含量极少^[5]。

2.2 药品中反式脂肪酸的来源

2.2.1 主成分为油脂的药品 常用静脉注射用脂

肪乳剂的主要成分为精制大豆油, 即大豆油经过脱胶、脱色、脱臭、高温灭菌等物化方法处理而得。长时间高温、不当的精制过程易产生反式脂肪酸。另外, 降血脂和预防冠心病的多不饱和脂肪酸类药物, 如血脂平、心脑血管康等以及常用保健品 EPA(20:5)和 DHA(22:6)(如鱼油、海狗油等), 其生产工艺是否会产生异构化的反式脂肪酸也有待考察。

2.2.2 含油脂辅料的药品 从药物辅料上来看, 可能含有反式脂肪酸的药物包括用氢化油作辅料的药物: 氢化植物油是片剂常用润滑剂之一, 也是缓释制剂溶蚀性骨架和蜡质包衣的常用原料; 用精炼植物油作辅料的药物: 如药物乳剂常用药用精炼大豆油等植物油作为油相的辅料; 以及用氢化的磷脂作为脂质体的原料等。

3 反式脂肪酸危害

早在上个世纪 80 年代, 就有科学家发现, 死于冠心病的人, 其脂肪中反式脂肪酸含量要高于正常人群。1994 年, 美国公共利益科学中心要求美国食品药品监督管理局应将反式脂肪酸予以在列管范围之内。近年来, 越来越多的研究揭示反式脂肪酸对人体的危害。Mensink 和 Katan^[6] 研究表明, 反式脂肪酸会增加人们患心血管疾病危险; 其次, 反式脂肪酸能提高胰岛素抗性 (insulin resistance), 而这会增加人们患 II 型糖尿病的机率^[7]; 第三, 会阻碍膳食中 $\omega-3$ 脂肪酸向组织脂肪酸的转化, 从而导致必需脂肪酸缺乏症^[8]; 第四, 能经胎盘转运给胎儿, 抑制婴幼儿生长发育^[9]; 最后, 会促进大脑动脉的硬化, 造成大脑功能的衰退。

2004 年, 丹麦首先立法规定所有食品中油脂的反式脂肪酸含量需要限制在 2% 以下。美国食品药品监督管理局则规定 2006 年 1 月 1 日后, 所有食品必须标明反式脂肪酸的含量, 建议每日反式脂肪酸摄入量在每日总摄取能量的 1% 以下。我国市面上仍有大量加工食品含反式脂肪酸, 如烘焙食品、薯片、方便面、蛋黄派、巧克力、咖啡伴侣等, 为此, 国家质检总局已于 2008 年 6 月发布《食品中反式脂肪酸的测定气相色谱法》有利于对食品中反式脂肪酸含量进行控制, 并推动低反式脂肪酸的生产技术。

4 反式脂肪酸的检测手段

4.1 红外吸收光谱法 (IR)

反式构型的双键由于其 C-H 的平面外振动, 使得反式脂肪酸在 966 cm^{-1} 处存在最大吸收, 而顺式构型的双键和饱和脂肪酸在此处却没有吸收。利用这一原理确定油脂中是否存在反式脂肪酸并进行

定量分析。

红外光谱法测定反式脂肪酸快速、简便,但是存在以下缺点:①体系中共轭双键含量不能大于 1% (共轭双键的最大吸收在 $950\sim 990\text{ cm}^{-1}$ 之间),如果油脂中含有超过 30% 不饱和脂肪酸会影响检测准确性;②测定体系中不能存在游离的羧基和甘油羟基 ($\text{O}-\text{H}$ 的平面外振动最大吸收在 935 cm^{-1} 处),否则会干扰反式双键中 $\text{C}-\text{H}$ 的最大吸收,降低测定值的精确度。为了取得较好的测定结果,一般需进行预处理,将样品甲酯化;③样品中反式脂肪酸含量应不低于 5%,否则测定结果的误差较大,精度不高。

傅立叶变换近红外光谱 (FT-NIR),比最初的红外吸收光谱法准确,可快速分类定量饱和脂肪酸、顺式/反式单不饱和脂肪酸和所有的 $\omega-3$ 及 $\omega-6$ 多不饱和脂肪酸^[10]。衰减全反射傅立叶变换近红外光谱法 (ATR-FT-NIR)测定油脂中的反式脂肪酸,以不含反式脂肪酸的油样作为参照物,所得反式脂肪酸谱图在 966 cm^{-1} 处呈现对称峰形,该方法不需进行样品的甲酯化处理,不需使用有毒溶剂二硫化碳,可提供完整的脂肪酸图谱^[11]。

4.2 气相色谱法 (GC)

气相色谱法已被广泛地应用于脂肪酸组成分析,脂肪酸的碳链长度、不饱和度和双键的几何构型等结构上的差异,使脂肪酸在气相色谱柱上的保留时间不同。脂肪酸在非极性气相色谱柱上的保留时间主要由挥发性决定,此时碳链长度是决定其保留时间的主要因素;在极性气相色谱柱上的保留时间由极性和链长共同决定,因此极性柱对不饱和脂肪酸的分离更有效。常用涂布高极性固定相的毛细管硅胶柱来分析脂肪酸甲酯。这种色谱柱可以将交叠的反式酸与顺式酸分开。因为反式酸与顺式酸的隔点很容易识别。但只要条件有细微的改变,就会影响这类脂肪酸的相对保留时间。目前,常采用长度为 100 m 的 SP-234Q SP-256Q CP-Sil88 或 BPX-70 毛细管柱,都以高极性的氰丙基为固定相,由于氰丙基的含量不同而极性相互有所差别^[12]。脂肪酸在此类高极性柱上的流出顺序为:饱和、单不饱和、二不饱和;反式异构体在顺式异构体之前流出,但是顺、反式位置异构体仍有部分的重叠。

4.3 气相色谱-质谱法 (GC-MS)

为了保证测定结果的准确性,在使每种顺、反脂肪酸甲酯得到满意分离的同时,采用质谱检测器取代氢火焰离子化检测器,可以对峰进行谱库对比和

结构鉴定,保证测定结果的准确^[13]。

4.4 银离子色谱-气相色谱法 ($\text{Ag}^+ - \text{TLC} - \text{GC}$)

由于银离子与顺式双键存在微弱的作用力,而与反式双键不发生作用,故可以用来分析脂肪酸的顺反异构。由银离子薄层色谱可单独分离出反式异构体,从而排除顺式异构体的干扰,将全部反式酸分离出来后再进行气相分析^[14]。银离子薄层色谱和气相色谱联用分析技术可以解决顺、反式位置异构体在气相色谱图上的重叠问题,提高对反式脂肪酸总量定量分析的准确度。该方法以银离子薄层对样品中顺、反式异构体进行预分离,用溶剂提取银离子薄层上的顺、反式异构体,再用气相色谱对反式脂肪酸进行定性定量分析。通过适当的降低柱温,可实现顺、反式脂肪酸各种位置异构体的基线分离。

4.5 银离子高效液相色谱 ($\text{Ag}^+ - \text{HPLC}$)

由于银离子薄层色谱中的银离子的真实浓度难以确定,在薄板的浸渍过程中银离子易氧化,而且不易被均匀地吸附,因此银离子薄层色谱对操作技术要求较高。银离子薄层色谱的样品容量小,分离后的斑点较分散,定量也比较困难。近年来人们用银离子高效液相色谱替代银离子薄层色谱分离顺、反式不饱和脂肪酸^[15]。不饱和脂肪酸在银离子柱上的分离是由不饱和度和双键的顺、反式几何构型决定的。

4.6 反相高效液相色谱 (RP-HPLC)

有研究人员以反相高效液相色谱分离脂肪酸 (包括不同碳数、不同饱和程度的脂肪酸、顺、反式油酸、亚油酸及亚麻酸)的色谱条件 (流动相系统和操作温度),为扩大线性范围,样品先经衍生化处理,以荧光检测器检测^[16]。结果表明,该法分离反式脂肪酸的灵敏度和分离时间与气相色谱法相近。但目前的反相高效液相色谱总的分离能力远不如能同时分离几十种脂肪酸的气相色谱法,仅能分离几种常见脂肪酸,衍生化处理方法也比气相色谱复杂,并且目前衍生物无商业化的色谱标准品。

4.7 毛细管电泳法 (CE)

O liverira^[17]等采用了带有 224 nm 紫外间接检测器的毛细管电泳。在最优化的条件下,10种脂肪酸 (包括反式油酸和全反式亚油酸)在 10 min 内分离出来,具有快速定量检测的特点。毛细管电泳法在脂肪酸测定尤其是反式脂肪酸定量分析的领域未被广泛运用,但可作进一步的研究。

5 反式脂肪酸检测平台进展

由于动植物油脂是最常用于食品工业的原料之一,所以目前为止对反式脂肪酸的研究多侧重于食

品。在上述提到的检测技术基础上,国外运用较为成熟的红外、气相等方法,针对不同食品,制定了对反式脂肪酸进行含量测定的若干标准,如美国官方分析化学家学会(AOAC)方法,有 965.34、985.21、994.14、994.15、996.06,美国粮油化学家协会(AOCS)方法,有 Cd 14d-95、Cd 14d-96、Cd 14b-93、Ce 1 c-89、Ce 1 f-96、Ce 1 h-05 以及 ISO 标准 15304-2002,各有其不同的适用范围,其中 AOAC 996.06 和 AOCS Ce 1 h-05 是美国食品药品监督管理局推荐的最新标准。我国发布的反式脂肪酸检测的国家标准也于 09 年 1 月 1 日实施。

除食品领域外,氢化油、精制油也被用于药品的生产。如脂肪乳剂的主要成分为精制大豆油,即大豆油经过脱胶、脱色、脱臭、高温灭菌等物化方法处理而得^[18],长时间高温、不当的精制过程会发生脂肪酸异构化。脂肪乳剂作为一种全营养输液,直接用于静脉滴注,应将其中对人体不利的物质含量降到最低。因此,需要防止在药用原料油的精制过程中产生反式脂肪酸。已采用碱催化的甲酯化方法,在 100 m 的强极性毛细管气相色谱柱对脂肪乳剂中的各类脂肪酸分离并进行定量检测。从实验结果来看,考察的样品中确实存在少量的反式脂肪酸^[19]。

药品的使用者是特殊人群,尤其某些患有特定疾病(如心血管疾病、糖尿病等)的患者,为了使其健康隐患降到最低,我们有必要对药品中反式脂肪酸问题给予一定重视,在对食品中反式脂肪酸检验的方法研究和经验基础上,对更多相关药品进行考察。

参考文献

- Sally F Schake, Lisa Hamack, Christine Wokl, *et al*. Incorporation of trans- fatty acids into a comprehensive nutrient database. *J Food Compos Anal*, 1999, 12(4): 323
- William W Christie. A practical guide to the analysis of conjugated linoleic acid (CLA). *Inform*, 2001, 12: 147
- Robert L Wolff. Content and distribution of trans- 18: 1 acids in ruminant milk and meat fats. Their importance in European diets and their effect on human milk. *JAOCS*, 1995, 72(3): 259
- G SM, J E Duchateau, H JV, an Oosten, M A Vasconcellos. Analysis of cis- and trans- fatty acid isomers in hydrogenated and refined vegetable oils by capillary gas- liquid chromatography. *JAOCS*, 1996, 73(3): 275
- Manuela Buchgraber, Franz U. Berth. Determination of low level trans unsaturation in physically refined vegetable oils by capillary GLC: results of 3 intercomparison studies. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2002, 104(12): 792
- Ronald P M ensink, Peter L Zock, Amold M Kester, *et al*. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am Soc Clin Nutr*, 2003, 77(5): 1146
- Harding AH, Day NE, Khaw KT, *et al*. Dietary fat and the risk of clinical type 2 diabetes. The European prospective investigation of cancer- Norfolk study. *Am J Epidemiol*, 2004, 159(1): 73
- T Seppänen-Laakso, I Laakso, R H Ilkunen. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition. *Anal Chim Acta*, 2002, 465(1-2): 39
- Jean Michel Chardigny, Robert L Wolff, Estelle Mager, *et al*. Fatty acid composition of French infant formulas with emphasis on the content and detailed profile of trans fatty acids. *JAOCS*, 1996, 73(11): 1595
- Hornoz Aziziana, John K G Kramer. A rapid method for the quantification of fatty acids in fats and oils with emphasis on trans fatty acids using Fourier transform near infrared spectroscopy (FT-NIR). *Lipids*, 2005, 40(8): 855
- W M Nimal Ratnayake, Steven L Hansen, Michael P Kennedy. Evaluation of the CP- Sil 88 and SP- 2560 GC columns used in the recently approved AOCS official method Ce 1 h- 05. Determination of cis-, trans-, saturated monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids in vegetable or non-ruminant animal oils and fats by capillary GLC method. *JAOCS*, 2006, 83(6): 475
- Alfred A Christy, Per K Egeberg, Eilif T Stensen. Simultaneous quantitative determination of isolated trans fatty acids and conjugated linoleic acids in oils and fats by chemometric analysis of the infrared profiles. *Vib Spectrosc*, 2003, 33(1-2): 37
- William W Christie. Gas chromatography-mass spectrometry methods for structural analysis of fatty acids. *Lipids*, 1998, 33(4): 343
- A Bysted, S Cold, G Helmer. An optimized method for fatty acid analysis including quantification of trans fatty acids in human adipose tissue by gas- liquid chromatography. *Scand J Clin Lab Invest*, 1999, 59(3): 205
- André Muller, Hans Steinhardt. Recent developments in instrumental analysis for food quality. *Food Chem*, 2007(3), 101: 1136
- Shu Hui Chen, Kwan Cheng Chen, Hsing Mei Lien. Determination of fatty acids in vegetable oil by reversed-phase liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr A*, 1999, 849(2): 357
- Oliveria M A, Solis V E, Gialli L A, *et al*. Method development for the analysis of trans- fatty acids in hydrogenated oils by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 2003, 24(10): 1641
- DENG Da-ming(邓大明), ZHU Jing-ping(祝经平). Refinement of soybean oil for fat emulsion injection(脂肪乳注射液用大豆油的精制法). *Chin Pharm J(中国药杂志)*, 2000, 35(1): 26
- LÜ Jing(吕晶), CHEN Gang(陈钢). Determination of trans fatty acids in lipid emulsion by methylation-capillary GC(脂肪乳剂中的反式脂肪酸的甲酯化-毛细管气相色谱法测定). *Chin J Pharm(中国医药工业杂志)*, 2008, 39(4): 276

(本文于 2008 年 10 月 31 日收到)