



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108812538 A

(43)申请公布日 2018.11.16

(21)申请号 201810639292.1

A23K 20/105(2016.01)

(22)申请日 2018.06.20

A23K 20/158(2016.01)

(71)申请人 昆明藻能生物科技有限公司

地址 650108 云南省昆明市五华区科发路
139号云南省大学科技园云南留学人
员创业园二期A3栋5楼505-3号

(72)发明人 张卫文 陈磊 刘璐

(74)专利代理机构 昆明今威专利商标代理有限
公司 53115

代理人 赛晓刚

(51)Int.Cl.

A01K 67/02(2006.01)

A23K 50/75(2016.01)

A23K 10/30(2016.01)

A23K 10/22(2016.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋
的制备方法

(57)摘要

本发明是一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋的制备方法。步骤是：挑选产蛋期的健康的蛋鸡若干只；在上述蛋鸡日常饲料中，同时添加以下三组成分中的每一组中的任一种，第一组：叶黄素、万寿菊、其它富含叶黄素的常见植物；叶黄素质量或万寿菊或其它富含叶黄素的植物中所含叶黄素的质量占喂养饲料总质量的比例为0.0005%~0.01%；第二组：玉米黄质、玉米、其他富含玉米黄质的常见植物；玉米黄质质量或玉米或其它富含玉米黄质的植物中所含玉米黄质的质量占喂养饲料总质量的比例为0.0003%~0.012%；第三组：鱼粉、亚麻籽、裂殖壶藻粉、裂殖壶藻泥、DHA鱼油、DHA藻油，其中所含DHA的质量为喂养饲料总质量的0.1~1.0%；连续喂养1-6周；获得鸡蛋。

1. 一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋的制备方法,其特征在于包括如下步骤:

一、挑选产蛋期的健康的蛋鸡若干只;

二、在上述蛋鸡的日常饲料中,按照质量百分比同时添加以下三组成分中的每一组中的任一种,第一组:叶黄素、万寿菊或者其它富含叶黄素的常见植物;第二组:玉米黄质、玉米或者其他富含玉米黄质的常见植物;第三组:鱼粉、亚麻籽、裂殖壶藻粉、裂殖壶藻泥、DHA鱼油或者DHA藻油;连续喂养1-6周获得鸡蛋;

上述蛋鸡饲料中添加的三种添加剂,其中叶黄素添加量或者万寿菊或其它富含叶黄素的植物中所含叶黄素的添加量占喂养饲料总质量的比例为0.0005%~0.01%;玉米黄质添加量或者玉米或其它富含玉米黄质的植物中所含玉米黄质的添加量占喂养饲料总质量的比例为0.0003%~0.012%;鱼粉、亚麻籽、裂殖壶藻粉、裂殖壶藻泥、DHA鱼油、DHA藻油中所含DHA的质量为喂养饲料总质量的0.1~1.0%。

2. 根据权利要求1所述的一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋的制备方法,其特征在于获得鸡蛋采用高效液相色谱法对鸡蛋中的叶黄素进行测定,获得鸡蛋采用反相高效液相色谱法对鸡蛋中的玉米黄质进行测定,获得鸡蛋采用高效气相色谱法对鸡蛋中的DHA含量进行测定。

3. 一种同时富含叶黄素、玉米黄质及DHA的营养鸡蛋用于保护及增强人体视力。

一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属生物技术领域,涉及家禽养殖,具体是一种具有视力保护及增强功效的营养鸡蛋的制备方法。

背景技术

[0002] 鸡蛋中富含人体所需的必须氨基酸、脂肪酸、维生素、矿物质等营养物质,是消费者每天的必需品,同时也是叶黄素、玉米黄质以及DHA的良好载体。通过营养调控手段,在蛋鸡饲料中添加叶黄素或者DHA等,可以生产富集叶黄素或者DHA的鸡蛋。然而,还未有通过改变家禽喂养的饲料成分,生产同时含有高叶黄素、玉米黄质与DHA三者的鸡蛋的报道。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于克服现有技术的不足,针对现代人工作和生活压力大、视力问题频发、视力保护及增强需求旺盛的特点,在鸡蛋这一传统食品的营养价值之上,本发明通过同时向蛋鸡饲料中添加富含叶黄素、玉米黄质和DHA的饲料添加剂,来生产同时富含叶黄素、玉米黄质和DHA的鸡蛋。

[0004] 为了解决上述问题,本发明一种同时富含叶黄素、玉米黄质和DHA的营养鸡蛋的制备方法采用的技术方案是:

[0005] (1) 挑选产蛋期的健康的蛋鸡若干只;

[0006] (2) 在上述蛋鸡日常饲料中,按照质量百分比同时添加以下三组成分中的每一组中的任一种,第一组:叶黄素、万寿菊、其它富含叶黄素的常见植物;第二组:玉米黄质、玉米、其他富含玉米黄质的常见植物;第三组:鱼粉、亚麻籽、裂殖壶藻粉、裂殖壶藻泥、DHA鱼油、DHA藻油;连续喂养1-6周;

[0007] (3) 上述蛋鸡饲料中添加的三种添加剂,叶黄素质量(或者万寿菊或其它富含叶黄素的植物中所含叶黄素的质量)占喂养饲料总质量的比例为0.0005%~0.01%;玉米黄质质量(或者玉米或其它富含玉米黄质的植物中所含玉米黄质的质量)占喂养饲料总质量的比例为0.0003%~0.012%;鱼粉、亚麻籽、裂殖壶藻粉、裂殖壶藻泥、DHA鱼油、DHA藻油中所含DHA的质量为喂养饲料总质量的0.1~1.0%;

[0008] 蛋鸡产的鸡蛋,采用高效液相色谱法测定其中叶黄素的含量为0.5~5.0mg/100g鸡蛋,采用反相高效液相色谱法测定其中玉米黄质含量为0.3~6.0mg/100g鸡蛋,采用高效气相色谱法测定其中DHA的含量为50~500mg/100g鸡蛋;

[0009] 叶黄素(Lutein,3',3'-二羟基- α -胡萝卜素)是一种广泛存在于蔬菜、花卉、水果等植物中的天然物质,属于“类胡萝卜类”族物质,已知在自然界中存在着600多种类胡萝卜素,其中只有约20种存在于人的血液和组织中。医学实验证明植物中所含的天然叶黄素是一种性能优异的抗氧化剂,在食品中加入一定量的叶黄素可预防细胞衰老和机体器官衰老,同时还可预防老年性眼球视网膜黄斑退化引起的视力下降与失明,通过一系列的医学研究,类胡萝卜素已被建议用作癌症预防剂,生命延长剂,溃疡抵制剂,心脏病发作与冠状动脉疾病

的抵制剂。尤其是在视力保护及增强方面,叶黄素具有一系列的功能,包括:为视网膜的主要色素成分,人类的眼睛含有高量的叶黄素,这种元素是人体无法制造的,必须靠摄入叶黄素来补充,若缺乏这种元素,眼睛就会失明;保护眼睛不受光线损害,延缓眼睛的老化及防止病变;保护视力,叶黄素作为抗氧化剂和光保护作用,可促进视网膜细胞中视紫质(Rhodopsin)的再生,可预防重度近视及视网膜剥离,并可增进视力、保护视力,特别适合学生、司机等人食用;缓解视疲劳症状:(视物模糊、眼干涩、眼胀、眼痛、畏光等);提高黄斑色素密度,保护黄斑,促进黄斑发育;预防黄斑变性、视网膜色素变性等。

[0010] 玉米黄质(Zeaxanthin, 3,3'-二羟基-β-胡萝卜素)是一种新型的油溶性天然色素,广泛存在于绿色叶类蔬菜、花卉、水果、枸杞和黄玉米中。在自然界中常常与叶黄素、β-胡萝卜素、隐黄质等共存,组成类胡萝卜素混合物。在人体中,玉米黄质主要分布在眼、肝脏、胰脏、肾脏、脾脏、卵巢等组织器官中,对健康起着重要作用。在眼睛中,玉米黄质主要集中在视网膜的黄斑区中心。人体和动物无法自身合成玉米黄质,必须通过食物或补充剂获得。在人体内,玉米黄质是一种强抗氧化剂,还可通过猝灭单线态氧、清除自由基等抗氧化行为来保护机体组织细胞,从而保护生物系统免受一些由于过量氧化反应所产生的潜在的有害作用,因此具有抗癌作用、预防心血管疾病、预防白内障等功效。如果没有正常功能的黄斑区,人的主要视力功能会逐渐损坏,甚至有失明的危险。在黄斑区中心点,入射光最强,产生的活性氧也最多。大量流行病学研究结果也表明,玉米黄质具有特异性吸收对视网膜最具损伤性的蓝色光线的作用,从而保护视网膜中央凹的视锥细胞。许多研究表明,短期增加玉米黄质摄入量,可以使黄斑色素增加,从而增强黄斑区对抗有害物质和光射线损害的能力,预防和减缓老年性黄斑变性。另外,玉米黄质本身具有很高的营养价值,食用后可在人体肝脏内转化成具有生物活性的维生素A,对促进人体的生长发育、保护视力与上皮细胞、提高抗病能力、延长寿命等具有特殊的功效。

[0011] DHA(Docosahexaenoic Acid,DHA,二十二碳六烯酸)是人脑发育、成长的重要物质之一,是大脑和视网膜的重要构成成分,在人体大脑皮层中含量高达20%,在眼睛视网膜中所占比例最大,约占50%。缺乏DHA摄入会导致视网膜组织中DHA含量下降,并导致视网膜电图失常。此外,DHA对视觉色素视网膜紫质的再生起至关重要的作用,而视网膜紫质在光线到视觉图像转换的系统中起关键作用。同时,最新的研究表明DHA等不饱和脂肪酸还具有降低眼内压、晶状体压力和青光眼等眼睛方面的健康益处。有研究表明,婴幼儿饮食中含有充足DHA会使婴幼儿视觉灵敏,而且视觉功能发育较快。由于早产儿体内DHA浓度偏低,需要特别补充DHA以保证早产儿视神经细胞的正常发育。孕妇在孕期摄入富含DHA的营养食物,通过输送到胎儿大脑和视网膜,可使胎儿的神经细胞成熟度提高。美国《临床营养学杂志》在2002年时就有报道指出,婴儿在进食富含DHA的食物52个星期后,视觉明显比对照组中未进食DHA的健康婴儿灵敏。

[0012] 上述三种与人体视力发育及保护相关的物质,均不能被人体所合成,需要通过膳食或额外服用胶囊等摄入。其中,叶黄素是人类日常食用生果及蔬菜时可吸收到的营养素,但吸收利用率一般较低,早在1996年叶黄素已被加入为膳食补充剂。绿色叶用蔬菜是叶黄素的主要膳食来源,但其中玉米黄质含量较少。联合国FAO/WHO、联合国食品添加剂专家委员会1977年第21次报告规定:凡是从已知食物中分离出来,化学结构无变化的色素,使用浓度又符合原食物中的天然浓度时,可看作是食品,不需要毒理学资料,而玉米黄质是已知食

物玉米中的成分之一,属类胡萝卜素,结合其理化分析结果考虑,可认为它安全无毒,可以直接应用于食品、医药和化妆行业中,最大使用量为5.0g/Kg。深海鱼、亚麻籽、微藻藻粉中富含DHA,但是绝大多数人群的日常膳食里很难包含这些食物,通过食物摄入远不能满足正常人体的需求。美国医学研究所(IOM)推荐各人群DHA每日适宜摄入量,分别是4岁-18岁每天90-160毫克,成年人每天160毫克,孕妇每天200毫克。鸡蛋作为一种高营养的必备食物普及在人们的生活中,是一种营养非常丰富、价格相对低廉的常用食品,食用对象相当广泛,从4~5个月的婴儿一直到老人,都适宜食用鸡蛋。

[0013] 本发明通过调节叶黄素、玉米黄质、DHA三者鸡蛋中的最优含量的同时,保证了三者在一起的功效互相促进,其食用能够维护眼睛和中枢神经健康,达到最优的对视力的保护及增强效果,这对于提高我国居民的眼部健康水平具有深远意义。同时,喂养本发明专利提出的同时添加叶黄素、玉米黄质及DHA的饲料,能明显提高蛋鸡的免疫力,由此大大减少抗生素的使用,产出的鸡蛋养分均衡丰富,蛋黄着色率高,无抗生素残留,口感更为香浓,也更有利于人体健康。

[0014] 本发明带来的益处基于以下几点:一)叶黄素和玉米黄质是眼睛中仅有的两种类胡萝卜素,然而,在摄入的常见食物中,其比例搭配大多数情况下并不能达到最优,如绿色叶用蔬菜是叶黄素的主要膳食来源,但其中玉米黄质含量却较少。二)叶黄素与玉米黄质是DHA的保护神,DHA与叶黄素及玉米黄质同补更能起到相得益彰的作用,视网膜含有丰富的DHA不饱和脂肪酸,DHA易于被氧化,如缺少叶黄素及玉米黄质,补再多的DHA对视网膜发育与保健作用也是大打折扣的,而黄斑区所含有丰富的叶黄素的抗氧化保护作用可以让视网膜免于受到脂肪氧化的伤害,同时还能防止DHA鱼腥味的产生。三)有研究表明,叶黄素、玉米黄质与DHA在一定高温下(如对鸡蛋进行煮、炒、煎等烹饪操作时),依然能够保留大部分的活性。

[0015] 本发明显著效果是,生产的同时富含叶黄素、玉米黄质和DHA的鸡蛋,叶黄素、玉米黄质与DHA的含量搭配合理,其食用可同时满足人体对于叶黄素、玉米黄质和DHA的需求,并且起到功效相得益彰的作用,能够维护眼睛和中枢神经健康,达到最优的对视力的保护及增强效果。同时,用本发明提供的方法饲养蛋鸡,饲料中的叶黄素、玉米黄质和DHA不仅能保护饲料的营养成分,而且能提高蛋鸡的免疫力,由此大大减少抗生素的使用,产出的鸡蛋养分均衡丰富,蛋黄着色率高,无抗生素残留,口感更为香浓,也更有利于人体健康。

具体实施方式

[0016] 下面通过实施例对本发明作进一步详细说明。

[0017] 实施例1:选取60只20周龄的蛋鸡,随机分为二组,要求各组间的蛋鸡生长和产蛋情况无明显差异,实验期间一组蛋鸡分别食用无添加的基础饲料、二组蛋鸡食用饲料添加了0.01%叶黄素纯品、0.002%玉米黄质纯品与2%的藻油(DHA含量40%),实验周期为42天,每天观察蛋鸡生长情况、产蛋情况,并于42日每组各采取10枚鸡蛋进行检测。

[0018] 实验结果证明:饲养过程中二组蛋鸡无死亡,一组蛋鸡死亡1只,产蛋量和平均蛋重无明显区别,但二组蛋鸡所产鸡蛋蛋黄中叶黄素、玉米黄质与DHA含量高(表1),蛋黄颜色更深。

[0019] 本发明的显著效果是,生产的同时富含叶黄素、玉米黄质和DHA的鸡蛋,叶黄素、玉

米黄质与DHA的量搭配合理,其食用可同时满足人体对于叶黄素、玉米黄质和DHA的需求,并且起到功效相得益彰的作用,能够维护眼睛和中枢神经健康,达到最优的对视力的保护及增强效果。同时,用本发明的提供的方法饲养蛋鸡,饲料中的叶黄素、玉米黄质和DHA不仅能保护饲料的营养成分,而且能提高蛋鸡的免疫力,由此大大减少抗生素的使用,产出的鸡蛋养分均衡丰富,蛋黄着色率高,无抗生素残留,口感更为香浓,也更有益于人体健康。

[0020] 实施例2:与实施例1相同,只是二组蛋鸡饲料添加了0.005%叶黄素纯品、0.001%玉米黄质纯品与1%的藻油(DHA含量40%)。

[0021] 实验结果证明:饲养过程中二组蛋鸡无死亡,一组蛋鸡生病1只,产蛋量和平均蛋重无明显区别,但二组蛋鸡所产鸡蛋蛋黄中叶黄素、玉米黄质及DHA量高(表2),蛋黄颜色更深。

[0022] 综上所述,本发明的内容并不局限在上述的实施例中,相同领域内的有识之士可以在本发明的技术指导思想之内可以轻易提出其他的实施例,但这种实施例都包括在本发明的范围之内。

[0023] 1.使用高效液相色谱法对鸡蛋中的叶黄素含量进行测定

[0024] 1.1方法提要

[0025] 鸡蛋蛋黄中的叶黄素用丙酮抽提后,在高效液相色谱仪中446nm处检测,以外标法定量。

[0026] 1.2仪器

[0027] 高效液相色谱仪、紫外检测器、超声波提取器、漩涡混合器、离心机、紫外分光光度计。

[0028] 1.3试剂

[0029] 叶黄素标品:叶黄素(纯度>99%,美国Fluka公司)。丙酮、二氯甲烷、甲醇(色谱纯,美国J.T.Baker公司);2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、甲基叔丁基醚(MTBE)(纯度>99%,美国Sigma公司);待测鸡蛋

[0030] 1.4测定步骤

[0031] 1.4.1样品制备

[0032] 生鸡蛋取蛋黄,冷冻干燥24h后研磨成粉。准确称取1.0g(精确至0.001g)样品,用5mL温水充分溶解,加入10mL丙酮溶液(含有0.12%BHT)和5.0g NaCl,震荡15min,低温离心5min(4000r/min),4℃,取上清液至10mL离心管中,用丙酮溶液定容,-40℃冷冻1h后,再次低温(4℃)离心5min。取上清液过0.22μm滤膜待分析。由于叶黄素遇光极易分解,故样品处理全过程应尽量避免光。

[0033] 1.4.2叶黄素标准溶液的配制

[0034] 准确称取1.0mg(精确至0.1mg)叶黄素标准品,用二氯甲烷溶解并定容至10mL,配制成100mg/L标准储备液;准确移取标准储备液,用甲醇稀释,配制成20mg/L标准中间溶液,分装成若干瓶后于-80℃冰箱避光保存。临用前将标准中间溶液从-80℃冰箱取出,放至室温后用丙酮溶液(含有0.12%(质量分数,下同)BHT)稀释成20~500μg/L的标准工作液。

[0035] 1.4.3色谱条件

[0036] 色谱柱:YMC Carotenoid C30柱(150mm×4.6mm,3μm);流动相:甲醇-甲基叔丁基醚(70:30,v/v),等度洗脱;柱温:25℃;流速:0.5mL/min;进样量:5μL;检测波长:446nm。

[0037] 1.4.4测定:分别取不同的标准使用液,注入高效液相色谱中进行分离,以标准溶液出峰的保留时间定性,记录相应的峰面积,绘制标准曲线图,以外标法定量。

[0038] 1.5结果计算

[0039] $X = (c \cdot V_1 \cdot 100) / (m \cdot V_2 \cdot 1000)$

[0040] 式中X—样品中叶黄素的含量(mg/100g)

[0041] c—从标品曲线查的样液中叶黄素的浓度($\mu\text{g}/\text{mL}$)

[0042] m—样品质量(g)

[0043] E—样品定容体积(mL)

[0044] K—样品测定液体积(mL)

[0045] 1000— μg 转换mg的换算系数。

[0046] 可得到鸡蛋中叶黄素的含量为0.5~5.0mg/100g鸡蛋。

[0047] 2.使用反相高效液相色谱法对鸡蛋中的玉米黄质含量进行测定

[0048] 2.1方法提要

[0049] 玉米黄质含量的反相高效液相色谱法,应用C30柱,以乙腈-甲醇-三乙胺(75:25:0.05,V/V)和甲基叔丁基醚-三乙胺(100:0.05,V/V)为流动相进行梯度洗脱,紫外检测器在450nm处进行检测,外标法定量。

[0050] 2.2仪器

[0051] 高效液相色谱仪、紫外检测器、超声波提取器、漩涡混合器、离心机、紫外分光光度计。

[0052] 2.3试剂

[0053] 黄体素(95.8%)、玉米黄质(99.8%)美国Sigma公司;乙腈、甲醇、甲基叔丁基醚(色谱纯)美国Fisher公司;三乙胺、石油醚(沸程30~60 $^{\circ}\text{C}$)、无水乙醇、无水硫酸钠、氢氧化钾、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)、抗坏血酸(均为分析纯)国药集团化学试剂公司;水为Milli-Q Gradient超纯水。

[0054] 2.4测定步骤

[0055] 2.4.1样品制备

[0056] (1)皂化

[0057] 生鸡蛋取蛋黄,冷冻干燥24h后研磨成粉。准确称取样品称取5g,准确至0.0001g,置于250mL圆底烧瓶中,加50mL抗坏血酸乙醇溶液,用均质器均质使试样完全分散,通入氮气,加10mL 500g/L氢氧化钾溶液,混合均匀,置于60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴回流40min,不时振荡防止试样粘附在瓶壁上,皂化结束,分别用5mL乙醇,5mL水自冷凝管顶端冲洗其内部,取出烧瓶冷却至约40 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0058] (2)提取

[0059] 定量转移全部皂化液于盛有60mL石油醚的500mL分液漏斗中,用30~50mL蒸馏水分2~3次冲洗圆底烧瓶并入分液漏斗,激烈振荡2min、放气,随后混合、静置分层。转移水相于第2个分液漏斗中,分次用40mL石油醚重复提取两次,弃去水相,合并3次石油醚相。每次用60mL蒸馏水洗涤石油醚提取液2~3次至中性,初次水洗时轻轻旋摇,防止乳化。石油醚提取液通过无水硫酸钠脱水,后转移到250mL鸡心瓶中,加100mg BHT使之溶解。以上操作均在避光通风柜内进行。

[0060] (3) 浓缩

[0061] 将石油醚提取液置于旋转蒸发仪上,在部分真空、水浴温度40℃条件蒸发干。残渣用2mL甲醇溶解,0.22μm滤膜过滤,待高效液相色谱仪测定。

[0062] 2.4.2 玉米黄质标准溶液的配制

[0063] 玉米黄质标准储备液:用少量丙酮溶解,再用甲醇为溶剂配成质量浓度分别为100 μg/mL和40 μg/mL标准品储备液。可根据需要稀释成系列标准溶液。

[0064] 2.4.3 色谱条件

[0065] 色谱柱:Ultimate XB-C30色谱柱(250mm×4.6mm,5μm);流速:1.0mL/min;柱温:25℃;检测器:紫外检测器,波长为450nm;进样体积:20μL。流动相A:乙腈-甲醇-三乙胺(75:25:0.05,V/V),流动相B:甲基叔丁基醚-三乙胺(100:0.05,V/V)。

[0066] 2.4.4 测定:分别取不同的标准使用液,注入高效液相色谱中进行分离,以标准溶液出峰的保留时间定性,记录相应的峰面积,绘制标准曲线图,以外标法定量。

[0067] 2.5 结果计算

[0068] $X = (c \cdot V_1 \cdot 100) / (m \cdot V_2 \cdot 1000)$

[0069] 式中X—样品中玉米黄质的含量(mg/100g)

[0070] c—从标品曲线查的样液中玉米黄质的浓度(μg/mL)

[0071] m—样品质量(g)

[0072] E—样品定容体积(mL)

[0073] K—样品测定液体积(mL)

[0074] 1000—μg转换mg的换算系数。

[0075] 可得到鸡蛋中玉米黄质含量为0.3~6.0mg/100g鸡蛋。

[0076] 3. 使用高效气相色谱法对鸡蛋中的DHA含量进行测定

[0077] 3.1 提油:生鸡蛋取蛋黄,冷冻干燥24h后研磨成粉。称取约25mg所得粉末样品放入15mL离心管,记录该重量。向该试管中加入750μL氯仿和300μL超纯水,随后将试管置于37℃下180rpm/min震荡1小时。再向该试管中加入2mL脂肪提取液(氯仿:甲醇=2:1,v/v,0.1% BHT),并置于37℃下180rpm/min震荡1小时。将试管在5500rpm常温下离心5min,抽取下层液体至另一干净试管。残渣加入2mL脂肪提取液并置于37℃180rpm/min震荡1小时后加入1mL超纯水摇晃混匀,再次在5500rpm常温下离心5min,抽取下层液体与第一次所得下层液体混合。向混合后的液体加入1mL KCl(1mol/L)溶液摇晃混匀,在5500rpm常温下离心5min,抽取下层液体至另一干净试管。再向所得下层液体中加入1mL超纯水,摇晃混匀,在5500rpm常温下离心5min,抽取1mL下层液体至一事先称重过(m_1)的干净的2mL离心管内,并在真空离心旋干机内干燥1小时,再次抽取剩余下层液体至该2mL离心管内在真空离心旋干机内干燥过夜。对2mL离心管再次进行称重(m_2)得到所得油脂重量($m_2 - m_1$)。

[0078] 3.2 DHA含量测定:向上述步骤中所得油脂中加入1mL正己烷和10μL KOH-CH₃OH(2mol/L)溶液,在65℃放置4-6小时,12000rpm常温离心30s,抽取上层澄清液体定容至1mL使用气相色谱仪进行DHA含量测定得到DHA样品浓度。

[0079] 3.2.1 色谱条件

[0080] HP-5毛细管色谱柱(30m×0.25mm×0.25μm),进样口温度280℃,氢火焰(FID)检测器温度240℃,柱温:初始温度200℃,升温速率30℃/min升至280℃保持5min,载气流速

1.0mL/min,进样量1.0 μ L,分流比100:1。以保留时间定性,峰面积外标法定量,在本实验条件下,DHA的保留时间为16.457min。

[0081] 3.2.2标准曲线

[0082] 3.2.2.1标准储备溶液的配制

[0083] 准确称取DHA标品450mg于10mL容量瓶,并立即用正己烷稀释至标线,此时标准储备溶液的浓度,DHA为45mg/mL。

[0084] 3.2.2.2标准曲线的制作

[0085] 将标准储备溶液用二硫化碳逐级稀释配制成如下质量浓度的标准系列(单位:mg/mL)。DHA:5.0,10.0,15.0,20.0,25.0。进样1.0 μ L,在此范围内进样量与峰面积之间呈线性关系,标准曲线为 $y=2E+10x-2E+06$ (y为DHA峰面积,x为DHA浓度),相关系数为0.9998。

[0086] 3.3总DHA含量计算

[0087] 总DHA (mg) = $\frac{\text{DHA 样品浓度} \times 1 \text{ ml} \times \text{干藻粉总重量}}{\text{所取藻粉重量}}$

[0088] 总DHA 含量 (%) = $\frac{\text{总DHA (mg)}}{\text{样品重量 (mg)}} \times 100\%$

[0089] 可得到鸡蛋中总DHA含量为50-500mg/100g鸡蛋。

[0090] 表1:实验一饲料中添加叶黄素、玉米黄质与DHA的鸡蛋测定

[0091]

组别/指标	叶黄素	玉米黄质	DHA藻油 (含40%DHA)	42天后健康鸡数量	鸡蛋中平均叶黄素含量(/100克鸡蛋)	鸡蛋中平均玉米黄质含量(/100克鸡蛋)	鸡蛋中平均DHA含量(/100克鸡蛋)
第一组	0	0	0	59	0.2 \pm 0.01 毫克	0.18 \pm 0.01 毫克	0
第二组	0.01%	0.002%	2%	60	3.81 \pm 0.43 毫克	0.82 \pm 0.03 毫克	412 \pm 35 毫克

[0092] 表2:实验二饲料中添加叶黄素、玉米黄质与DHA的鸡蛋测定

[0093]

组别/指标	叶黄素	玉米黄质	DHA藻油 (含40%DHA)	42天后健康鸡数量	鸡蛋中平均叶黄素含量(/100克鸡蛋)	鸡蛋中平均玉米黄质含量(/100克鸡蛋)	鸡蛋中平均DHA含量(/100克鸡蛋)
第一组	0	0	0	59	0.2 \pm 0.01 毫克	0.18 \pm 0.01 毫克	0
第二组	0.005%	0.001%	1%	60	1.82 \pm 0.33 毫克	0.45 \pm 0.03 毫克	198 \pm 23 毫克