

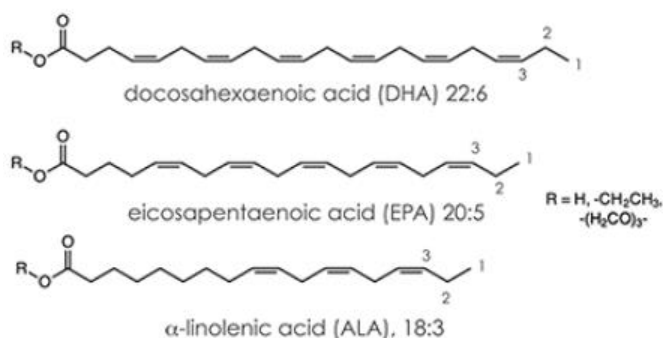
SPETTRI NMR DA BANCO NMREADY-60E PER I INTEGRATORI DI OLIO DI PESCE

La natura è una costante fonte di ispirazione per il progresso scientifico. Gli esempi sono troppo numerosi per essere contati:

- Celle solari per imitare la fotosintesi
- Aspirina dalla corteccia di salice
- Penicillina dalla muffa del pane

L'oceano non fa eccezione; sia i vertebrati che gli invertebrati vengono sfruttati nella ricerca di nuovi composti medicinali.

Il fitoplancton e le alghe marine, per esempio, riescono a fare quello che per i mammiferi è impossibile: produrre una varietà di omega-3 (ω -3), acidi grassi polinsaturi (PUFAs). Questi prodotti naturali sono basilari per i processi metabolici, inclusi l'attività celebrale e cardiaca. I PUFAs sono anche antinfiammatori e anticancerogeni.



La principale fonte umana di PUFAs è la dieta a base di pesci che si nutre di questi microrganismi ricchi in ω -3. La designazione ω -3 si riferisce a doppio legame che si genera dal terzo carbonio al termine della catena. Ci sono una varietà di molecole nella classe ω -3, differenti per lunghezza di catena e grado di saturazione. I tre più importanti sono mostrati di seguito: DHA, EPA e ALA.

L'EPA agisce come precursore degli eicosanoidi coinvolti in importanti loop di feedback nella regolazione del sangue, inclusi l'aggregazione delle piastrine e l'attivazione dei globuli bianchi.

DHA è il componente primario della corteccia celebrale, della pelle e della retina. Può essere metabolizzata direttamente o sintetizzata in vivo dagli ALA. Questo è un acido grasso di vitale importanza per:

- Mantenere la corretta funzionalità cerebrale
- Diminuire la progressione dell'Alzheimer
- Aumentare la salute cardiovascolare
- Aumentare l'efficienza della chemioterapia
- Inibire la crescita di alcuni tipi di tumori

Dato che molte diete sono carenti in ω -3 mentre si ingerisce una quantità troppo alta del rapporto ω -6/ ω -3, sono disponibili diversi integratori. Qui, descriviamo una serie di differenze tra quattro di queste alternative utilizzando sia la spettroscopia ^1H NMR da banco a 400 e 60 MHz:

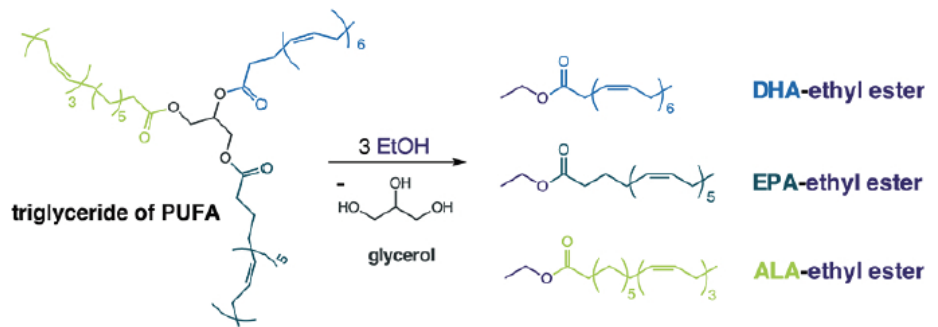
- Integratori di ω -3
- Olio di salmone selvatico
- Olio di fegato di merluzzo
- Olio di fegato di squalo

Integratori di ω -3

L'etichetta di un tipico integratore di ω -3 di solito include:

- Olio di pesce concentrato (PUFA-EE)
- Acido eicosapentaenoico (EPA)
- Omega-3 acidi grassi (PUFA)
- Acido docosaesaenoico (DHA)

Il concentrato di olio di pesce è unico per gli integratori di ω -3. Non è presente naturalmente, al contrario si forma tramite una semplice reazione di transesterificazione. Come illustrato qui, questo include una reazione di un

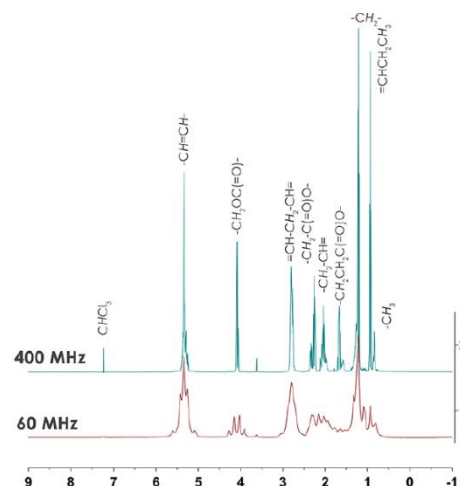


trigliceride di PUFA con l'etanolo (EtOH) per eliminare i legami con i trigliceridi come il glicerolo in favore degli ω -3 come derivati dell'estere etilico.

Questo processo avviene perché rende i PUFA più facili da raffinare, purificare e concentrare. Questi derivati, comunque, sono considerati meno biodisponibili dato che devono essere riconvertiti in forma di trigliceridi in vivo.

I derivati dell'estere etilico danno origine nello spettrometro ^1H NMR (sia 60 che 400 MHz) a un quartetto a δ 4.09 ppm ($-\text{CH}_2\text{-OC(=O)-}$) e una significativa assenza di legami con i trigliceridi a δ 4.21 ppm.

%	60 MHz	400 MHz	%Difference
Olefin $-\text{CH}=\text{CH}-$	22.87	22.84	0.12
ethyl ether $-\text{CH}_2\text{O}-$	5.18	5.13	1.09
bis-allylic $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$	18.54	18.46	0.44
α and β $-\text{CH}_2-$	21.47	21.37	0.46
alkyl $-\text{CH}_2-$	24.54	24.14	1.69
Terminal methyl $-\text{CH}_3$	7.39	8.06	-8.31
Total %	100.00	100.00	n/a

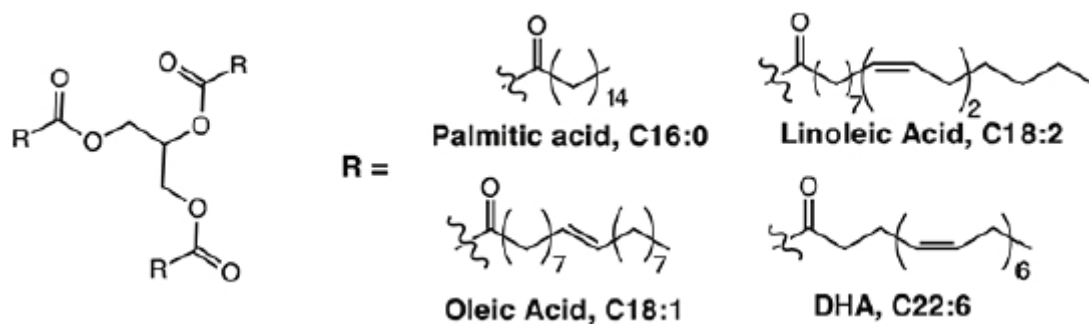


Anche se i derivati dell'estere etilico sono considerati più difficili da assorbire, la forza in questi integratori è che sono preparati in assenza di eccessi di acidi grassi saturi o monoinsaturi o tossine che rimangono nella fonte di nutrienti.

Olio di salmone selvatico

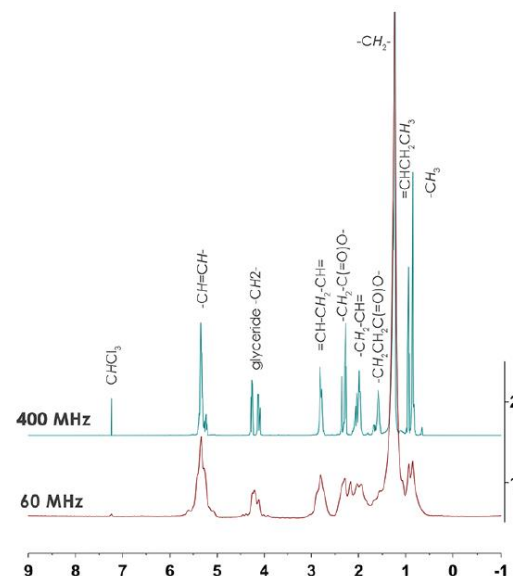
L'olio di pesce, come l'olio del salmone selvatico in questo esempio, sono gli integratori meno elaborati:

- Olio di salmone selvatico dell'Alaska
- Acido eicosapentaenoico (EPA)
- Acido docosaesaenoico (DHA)



Si è notato che i grassi saturi favoriscono l'insorgenza di problemi cardiovascolari. Anche se c'è un'evidenza che suggerisce che gli acidi grassi monoinsaturi riducono le infiammazioni e sono benefiche per mantenere la normale crescita delle cellule, la maggior parte delle diete occidentali contiene quantità più significative di ω -6 che ω -3. Quando questo rapporto è troppo alto, si è visto avere ripercussioni sulla salute umana.

%	60 MHz	400 MHz	%Difference
Olefin -CH=CH-	12.25	12.08	1.47
glyceride -CH ₂ -	3.91	3.79	3.18
bis-allylic =CH-CH ₂ -CH=	7.10	7.00	1.44
α and β -CH ₂ -	20.30	20.50	-1.02
alkyl -CH ₂ -	47.02	47.47	-0.94
Terminal methyl -CH ₃	9.41	9.16	2.82
Total %	100.00	100.00	n/a



L'olio di salmone è per la maggior parte composto da acidi grassi naturali, trigliceridi combinati con EPA e DHA. Siccome è meno elaborato, questo integratore contiene un'alta quantità di acidi grassi saturi (e.g. acido palmitico) e monoinsaturi (e.g. acido oleico) in aggiunta ai PUFAs (e.g. acido linoleico, DHA). Le molecole illustrate qui sono generalmente ritrovate in alte concentrazioni nell'olio di salmone.

Come gli integratori di ω -3, c'è un buon accordo tra il dato 60 e il 400 MHz per composizione percentuale dell'integratore alimentare.

Il rapporto tra gli acidi ω -3: ω -6 può essere determinato tramite la NMR 400 MHz, mentre con la 60 MHz non c'è abbastanza risoluzione per determinare in modo preciso il rapporto. Indipendentemente, i saturi e i monoinsaturi possono essere osservati tramite:

- Componenti alchilici -CH₂ significativamente maggiori (~47% cf., 24% negli integratori di ω -3)
- Un più alto rapporto olefina – bis-allilico.

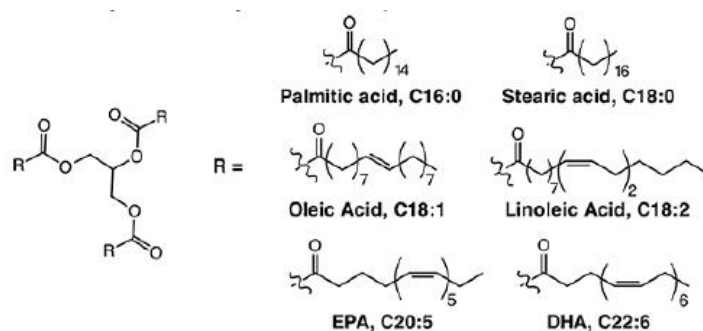
Il legame dei trigliceridi è facilmente osservabile tramite multiplette centrate a δ 4.21 ppm.

Olio di fegato di merluzzo

Gli integratori a base olio di fegato di merluzzo di solito includono:

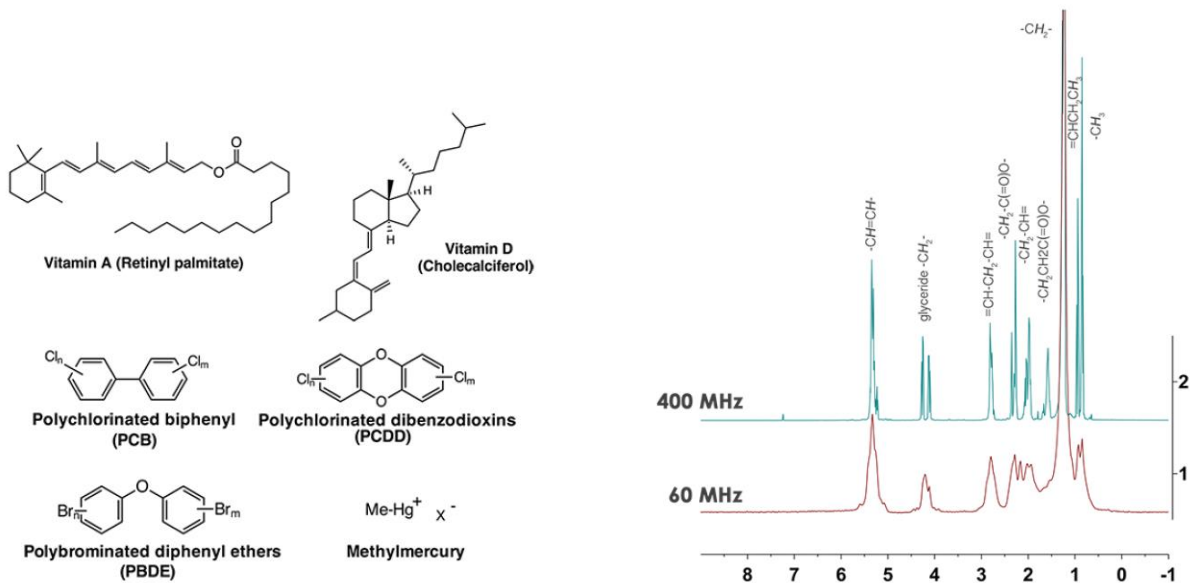
- Olio di fegato di merluzzo
- Vitamina A (acido palmitico)
- Vitamina D (colecalfiferolo)

Come i due integratori precedenti, l'olio di fegato di merluzzo è una fonte eccellente di ω -3, soprattutto EPA e DHA. Questi acidi grassi liberi sono trigliceridi in forma naturale. La relativa composizione è molto simile a quella dell'olio di salmone – contenente una grande quantità di acidi grassi saturi (e.g. acido palmitico e stearico), monoinsaturi ω -9 (e.g. acido oleico) e ω -6 (e.g. acido linoleico).



%	60 MHz	400 MHz	%Difference
Olefin -CH=CH-	11.46	12.08	-2.60
glyceride -CH ₂ -	4.00	4.00	-0.12
bis-allylic =CH-CH ₂ -CH=	6.80	6.84	-0.50
α and β -CH ₂ -	20.53	20.90	-1.75
alkyl -CH ₂ -	48.40	47.60	1.67
Terminal methyl -CH ₃	8.81	8.89	-0.95
Total %	100.00	100.00	n/a

La caratteristica che distingue l'olio di fegato di merluzzo è la quantità di vitamina A e D₃ presente. La vitamina D è in basse concentrazioni (~0.01 mg/capsula) ed è sotto al limite di rilevabilità per entrambi il 60 e il 400 MHz. Anche se la vitamina A è presente in quantità molto più alte (~0.8 mg/capsula), le risonanze non sono comunque molto evidenti nello spettro. Una tecnica più sensibile sarebbe necessaria per identificare questi componenti.



Ciò nonostante, la quantità di palmitato di retinile presente può essere causa di preoccupazione poiché è molto vicino alle quantità tollerabili dal corpo umano. La vitamina A, anche se di vitale importanza per alcune funzioni come la vista, è un grasso solubile ed è nota per bio-accumularsi nel tessuto grasso. Le persone assumono di solito l'olio di fegato di merluzzo per regolare e limitare altre fonti di vitamina A nelle loro diete, ed è raccomandato che lo facciano sotto la guida di un esperto.

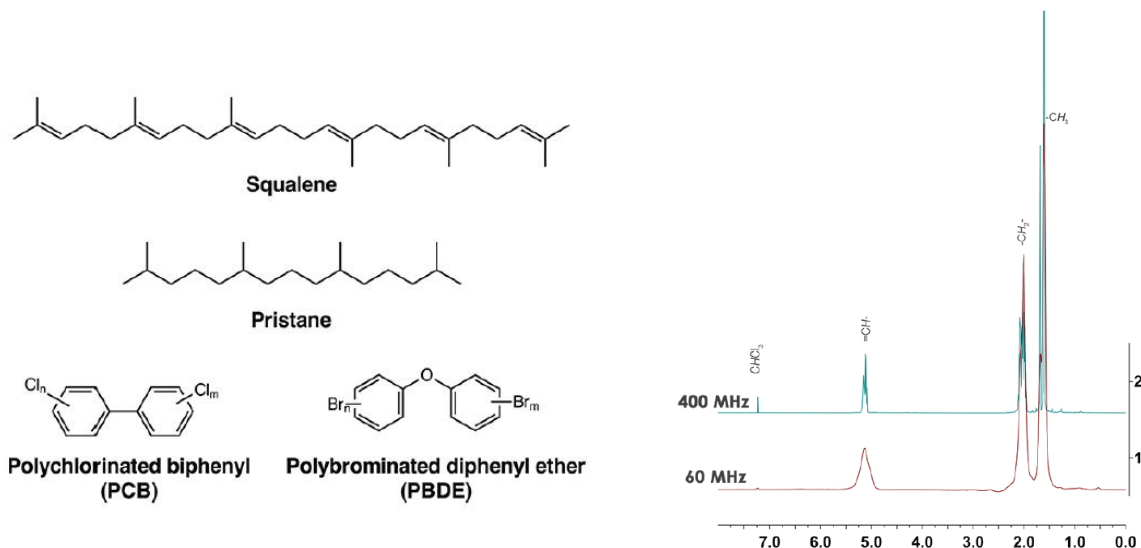
Inoltre, dato che il fegato viene utilizzato per rimuovere le tossine, c'è anche il potenziale per tracciare la quantità di contaminanti (e.g. PCB, PCDD, PBDE, MeHg). Se presenti in questi campioni, sono a concentrazioni troppo basse per essere rilevati sia dal 60 che dal 400 MHz.

Olio di fegato di squalo

L'olio di fegato di squalo, prodotto da alcune specie di squalo di mare profondo, è spesso ingiustamente classificato come integratore di PUFA poiché in realtà non contiene alcun ω -3 PUFA. Il fegato di squalo ha una composizione unica poiché funge da vescica natatoria. È piena di oli che aumentano efficacemente la galleggiabilità dello squalo. Questo olio è quasi interamente squalene.

Lo squalene è un terpenoide essenziale precursore dello sviluppo in vivo di tutti gli steroidi. Anche se c'è un'altra fonte natura di squaloide (e.g. olio vegetale, amaranto), il fegato di squalo è la fonte principale.

Anche se lo squalene possiede una bio-attività molto diversa, i suoi benefici sulla salute sono molto simili a quelli dei PUFA. Si pensa che lo squalene abbia attività anticancerogena, riducendo il rischio di tumori e che riduca i tumori esistenti. Inoltre, sembrerebbe potenziare le terapie chemioterapiche.



Ci sono due potenziali componenti problematici negli oli di fegato di squalo: l'acido pristanico e, come nell'olio di fegato di merluzzo, le tossine (e.g. PCB, PBDE). Mentre non c'è evidenza dei protoni aromatici del PCB o del PBDE sia con la NMR 60 che con la 400 MHz, suggerendo che sono entrambi assenti o al di sotto del limite di rilevabilità, c'è un'impurità alchilica nel campione che abbiamo testato.

Lo spettro sotto mostra evidenza di impurità alchiliche in entrambi i campi alti e bassi nel range δ 0-1.4 ppm. Questo è probabilmente acido pristanico residuale. L'acido pristanico è un terpenoide saturato che è la seconda sostanza più presente nell'olio di fegato di squalo. È conosciuto per indurre malattie auto-immuni e plasmocitosi nei gatti, ed è anche stato collegato all'aumento dell'incidenza dell'artrite reumatoide negli umani. Per determinare se questa impurità è acido pristanico o se è un solvente residuale occorre utilizzare delle tecniche più sensibili come la spettrometria di massa (MS) o una cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC).