

毛细管气相色谱法测定鱼油脂肪乳注射液中 DHA 和 EPA 的含量

靖会 赵惠茹 扈本荃

(西安医学院药学院 陕西 西安 710021)

摘要: 采用直接进样毛细管气相色谱法测定鱼油脂肪乳注射液中 DHA 和 EPA 的含量,色谱柱为 PEG-20M 毛细管柱,柱温采用程序升温,载气为氦气,流速 0.5 mL/min,采用 FID 检测器,温度为 280 °C,进样口温度 300 °C,分流比 5:1,进样量 1 μ L。结果表明,DHA 甲酯及 EPA 甲酯浓度分别为 0.197~0.690 g/L,0.208~0.743 g/L 时线性关系良好, r 分别为 0.999 5,0.998 4;平均回收率分别为 99.99%,99.41%,RSD 分别为 0.52%,0.47%。该法简便、准确、重现性好,可用于鱼油脂肪乳注射液中 DHA 和 EPA 的含量测定。

关键词: 鱼油脂肪乳; DHA; EPA; 含量测定; 毛细管气相色谱法

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2011)03-0542-03

Determination of DHA and EPA in fish oil lipid emulsion injection by GC

JING Hui ZHAO Hui-ru HU Ben-quan

(Department of Pharmacy, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, China)

Abstract: The content of DHA and EPA in fish oil lipid emulsion injection was determined by capillary gas chromatographic method with directly sampling. The chromatographic column was PEG-20M. The column temperature was programmed. The carrier gas was helium and the flow rate was 0.5 mL/min. The detector was FID and its temperature was 280 °C. The injection temperature was 300 °C, the split ratio was 5:1, and the injection volume was 1 μ L. Results showed that the linear range of DHA ester and EPA ester was 0.197~0.690 g/L and 0.208~0.743 g/L, r was 0.999 5 and 0.998 4, respectively. The average recovery was 99.99% and 99.41%, RSD was 0.52% and 0.47%, respectively. The method was simple, accurate and reproducible and it can be used to determinate the concentration of DHA and EPA.

Key words: fish oil lipid emulsion; DHA; EPA; determination; capillary gas chromatography

鱼油具有极高的营养和临床价值,在防治冠心病、高血压、糖尿病、关节炎、炎症性疾病,以及自身免疫性病变和癌症中都起着重要作用。其中富含的 ω -3 多不饱和脂肪酸,其基本成分二十二碳六烯酸(DHA)和二十碳五烯酸(EPA)是人体必需的多不饱和脂肪酸^[1-4]。目前国内已经有无锡华瑞制药有限公司的鱼油脂肪乳注射液“尤文”上市,其主要成分即为精制鱼油,其中含有大量的 DHA 和 EPA。本文采用毛细管气相色谱法对其含量进行测定。由于 DHA 和 EPA 性质不太稳定,故在本文的研究中均以其甲酯产品代替。

1 实验部分^[5-7]

1.1 试剂与仪器

二十一烷酸甲酯对照品(批号 1228139,含量 \geq

98.5%,fluka 公司)、DHA 甲酯对照品(批号 1398557,含量 \geq 98%,美国 sigma 公司)、EPA 甲酯对照品(批号 1397641,含量 \geq 98.5%,fluka 公司);尤文(无锡华瑞制药有限公司);正庚烷、氢氧化钠、甲醇、三氟化硼、无水硫酸钠等均为分析纯。

GC-14C 气相色谱仪;GR-202 分析天平。

1.2 溶液的制备

1.2.1 内标溶液的制备 取二十一烷酸甲酯 12.5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加正庚烷溶解并稀释至刻度,制成 0.5 mg/mL 的内标溶液。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 DHA 甲酯、EPA 甲酯及二十一烷酸甲酯对照品适量,加正庚烷制成每毫升含 DHA 甲酯和 EPA 甲酯各约 1 mg,二十一烷酸甲酯约 0.5 mg 的对照品溶液。

收稿日期:2010-12-08 修改稿日期:2011-01-15

作者简介:靖会(1977-),女,湖北枣阳人,西安医学院讲师,硕士,从事药物制剂及质量控制方面工作。电话:13572229685, E-mail: jinghui1204@sohu.com

1.2.3 供试品溶液制备 精密量取本品 0.2 mL, 置 50 mL 圆底烧瓶中, 加 0.5 mol/L 的氢氧化钠甲醇溶液 6.0 mL, 混合, 加热回流 30 min。加入三氟化硼甲醇溶液 6.0 mL, 混合, 水浴加热至沸腾, 加热 15 min。冷至室温, 加水 10 mL, 剧烈振摇, 精密加入内标溶液 10 mL, 振摇, 分层后取上层, 用无水硫酸钠干燥, 作为供试品溶液。

1.2.4 阴性对照样品制备 按处方量取除鱼油外的其它原辅料, 按脂肪乳制备方法制备阴性样品, 并精密量取样品 0.2 mL, 按 1.2.3 节进行操作。

1.3 色谱条件

色谱柱 PEG-20M(30 m × 0.25 mm × 0.2 μm);

柱温采用程序升温方式为: 初始温度 200 °C, 以 2 °C/min 的速度升至 230 °C, 保持 10 min, 再以 10 °C/min 的速度升至 240 °C, 保持 10 min; 载气为氦气, 流速 0.5 mL/min; FID 检测器, 其温度为 280 °C; 进样口温度 300 °C, 分流比 5:1 进样, 进样量 1 μL。

2 结果与讨论

2.1 专属性实验

精密量取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照样品溶液各 1 μL, 注入气相色谱仪。结果各峰之间分离度良好, 空白辅料不干扰测定。对照品、供试品及阴性对照样品溶液的色谱图见图 1。

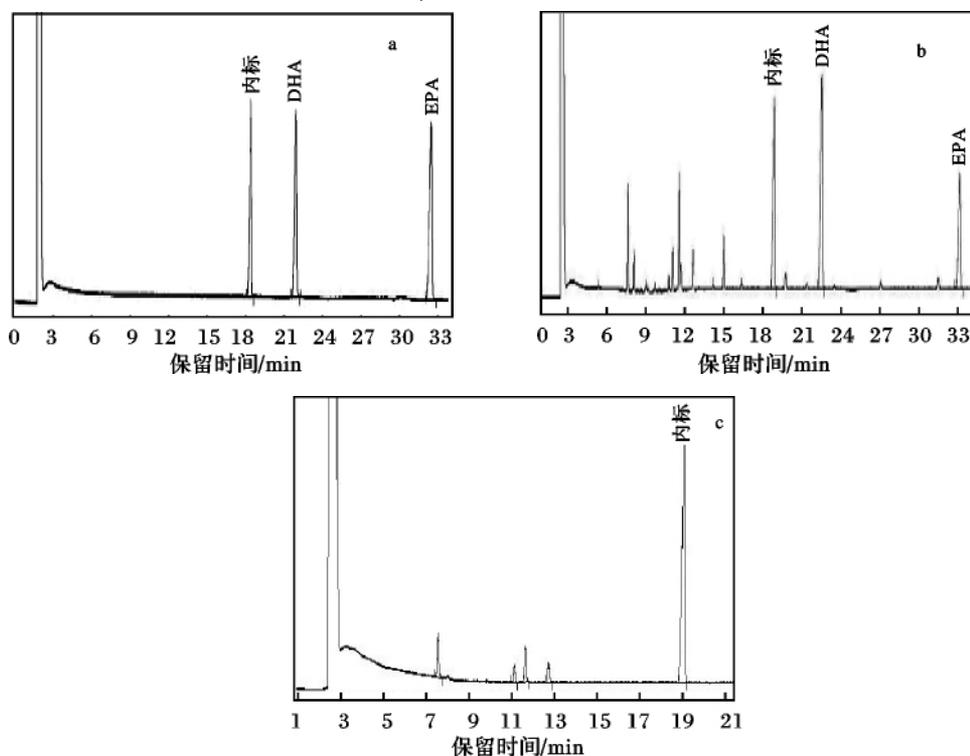


图1 GC 色谱图

Fig. 1 GC chromatograms

a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; c. 阴性对照样品溶液

2.2 线性关系的考察

精密量取对照品溶液并用正庚烷稀释成 DHA 甲酯和 EPA 甲酯浓度分别为 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 g/L 的系列对照品溶液, 分别量取 1 μL 注入气相色谱仪, 记录峰面积, 按内标法计算。结果 DHA 甲酯浓度为 0.197 ~ 0.690 g/L、EPA 甲酯浓度为 0.208 ~ 0.743 g/L 时, 峰面积与浓度呈良好的线性关系, 线性回归方程分别为: $y = 0.1476x - 0.0138$, $r = 0.9995$; $y = 1.3748x + 0.0438$, $r = 0.9984$ 。

2.3 精密度实验

取尤文(批号: TG1432) 0.2 mL, 按 1.2.3 节制备供试品溶液, 重复进样 6 次, 计算峰面积, 结果

DHA 甲酯和 EPA 甲酯的 RSD 分别为 0.69% 和 1.18%, 表明精密度良好。

2.4 重复性实验

取尤文(批号: TG1432) 0.2 mL, 按 1.2.3 节平行制备 6 份样品, 分别测定, 按内标法计算含量, 结果 DHA 甲酯和 EPA 甲酯含量的 RSD 分别为 1.72% 和 0.90%, 表明方法的重复性良好。

2.5 稳定性实验

取尤文(批号: TG1432) 0.2 mL, 按 1.2.3 节制备供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 测定, 计算峰面积, 结果 DHA 甲酯和 EPA 甲酯的 RSD 分别为 1.57% 和 1.62%, 表明该样品溶液至少在 8 h 内稳定。

2.6 回收率实验

精密量取已知 DHA、EPA 含量的尤文 (TG1432) 0.1 mL 共 9 份, 分别精密加入不同浓度

的 DHA 甲酯与 EPA 甲酯混合对照品溶液 0.1 mL, 按内标法测定各样品溶液中 DHA 甲酯与 EPA 甲酯的含量, 计算平均回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率实验结果 (n=9)

Table 1 The results of recovery

样品中 DHA 甲酯量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD/%	样品中 EPA 甲酯量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均回收率 /%	RSD/%
	2.093	4.682				1.383	3.099		
	2.093	4.697				1.383	3.088		
	2.093	4.707				1.383	3.092		
	2.594	5.207				1.786	3.476		
2.608	2.594	5.224	99.99	0.52	1.719	1.786	3.462	99.41	0.47
	2.594	5.257				1.786	3.457		
	3.193	5.774				2.617	4.306		
	3.193	5.767				2.617	4.325		
	3.193	5.785				2.617	4.332		

2.7 样品测定

取 3 批样品, 按 1.2.3 节制备供试品溶液, 按内

标法测定 DHA 甲酯与 EPA 甲酯的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果

Table 2 Content determination results of samples

规格	批号	DHA 甲酯/(g·L ⁻¹)	EPA 甲酯/(g·L ⁻¹)
每 100 mL 市售尤文中	TG1611	26.32	16.73
精制鱼油: 卵磷脂 = 10(g) : 1.2(g)	TG1432	26.08	17.19
	TG1548	25.89	16.92

鱼油脂肪乳注射液(尤文)是中国第一个上市的治疗型脂肪乳注射液, 其主要成分精制鱼油来源于深海鱼类, 由于鱼种、部位、捕获季节不同, 鱼油中所含的 DHA 和 EPA 有所不同, 所以该方法的建立将可以用于鱼油原料的品质控制。不仅如此, 越来越多的鱼油保健品也已经上市, 对于其质量的控制也可以采用该方法或作适当改进。

3 结论

采用直接进样毛细管气相色谱法测定鱼油脂肪乳注射液中 DHA 和 EPA 的含量, 结果表明, DHA 甲酯及 EPA 甲酯浓度分别为 0.197 ~ 0.690 g/L, 0.208 ~ 0.743 g/L 时线性关系良好, r 分别为 0.999 5 和 0.998 4; 平均回收率分别为 99.99% 和 99.41%, RSD 分别为 0.52% 和 0.47%。本法简便、准确, 重现性好, 可用于鱼油脂肪乳注射液的质量控制。

参考文献:

[1] 高鸿雁. 鱼油及其制品的开发应用与市场概况[J]. 天

津药学, 1996, 8(4): 28-31.

- [2] 刘景铎, 李耀, 张朝阳. 鱼油在疾病防治中的应用[J]. 人民军医, 2006, 49(5): 296-298.
- [3] 洪盈, 刘冬, 王圣符. 鱼油中的 omega-3 脂肪多烯酸——EPA 及 DHA[J]. 沈阳药科大学学报, 1991, 17(2): 140-145.
- [4] 洪滨, 刘会洲. 国内 EPA 及 DHA 研究现状和发展趋势[J]. 过程工程学报, 1996, 19(1): 80-85.
- [5] 李庆民, 陈桂范, 高实, 等. 气相色谱外标法测定鱼油中 EPA 和 DHA 的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 1996, 13(4): 259-261.
- [6] 邓亮, 叶利民, 陈聪, 等. 大口径毛细管柱气相色谱法测定鱼油软胶囊中 EPA-E 和 DHA-E 的含量[J]. 华西药学杂志, 2004, 19(2): 117-119.
- [7] 牟志春, 张建武. 毛细管气相色谱法测定进口鱼油保健品中 EPA、DHA 含量[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 1998, 21(6): 328-333.