

气相色谱法测定供药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量

GC-159

摘要：本文建立了气相色谱仪检测供药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，顺反异构体分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中反式脂肪酸测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.2%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行反式脂肪酸含量的测定。

关键词：气相色谱仪 药用辅料 反式脂肪酸

脂肪是人体三大营养素之一，具有构建机体组织、提供人体活动所需能量等重要的生理作用。在临床治疗上，以植物油为原料，辅以磷脂乳化剂、等渗剂等制成的脂肪乳剂常被用于无法进食或严重缺乏营养的患者，这种乳剂可供静脉注射，能完全被机体代谢和吸收，以供给人体必需的脂肪酸和能量。此外，植物油也可作为药用辅料添加在脂溶性药物中，承担分散载体、润滑剂、赋形剂等作用。

反式脂肪酸 (trans fatty acid, TFAs) 是指含有一个或多个反式双键结构的一类不饱和脂肪酸。已有大量的科学研究表明，反式脂肪酸对于人体存在诸多危

害。对于食品中的 TFAs，已有较成熟的研究及较严格的管控法规，所以用作特殊人群的药物和药用辅料中的 TFAs 同样需要严格的控制。在最新发布的 2020 版药典中，《0713 脂肪与脂肪油测定法》通则在 2015 版的基础上，增订了供药用和药用辅料的脂类物质及类似物的脂肪酸组成、反式脂肪酸等测定项目。

本文建立了用气相色谱分析方法测定药用和药用辅料脂类物质中反式脂肪酸含量的方法，对供试样进行甲酯化处理后上机分析，根据各脂肪酸甲酯的保留时间定性，使用峰面积归一化法定量。各种顺、反式脂肪酸分离度良好，符合 2020 版药典要求。

■ 实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：Nexis GC-2030

1.2 分析条件

色谱柱：Rt-2560, 100 m×0.25 mm×0.2 μm

柱温程序：163°C (85 min)_30°C /min

_240°C (13 min)

进样口温度：250°C

载气控制方式：恒压 (40 psi)

进样方式：分流进样 (分流比为 45:1)

进样量：1 μL

检测器温度：250°C

氢气流量：32 mL/min

空气流量：200 mL/min

尾吹流量：24 mL/min

1.3 样品前处理



■ 结果讨论

2.1 标准溶液色谱图

以异辛烷为溶剂配制总浓度为 10 mg/mL 脂肪酸甲酯混合标准溶液，气相色谱图见图 1，相关化合物信息见表 1。

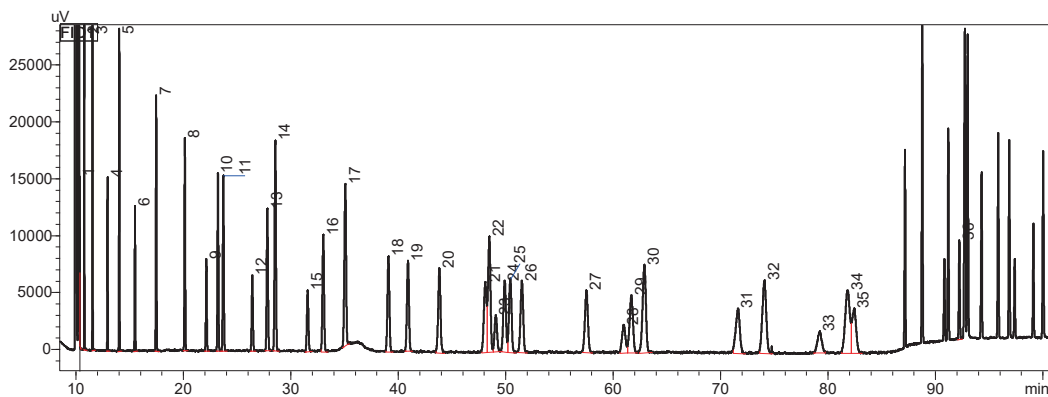


图 1 脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

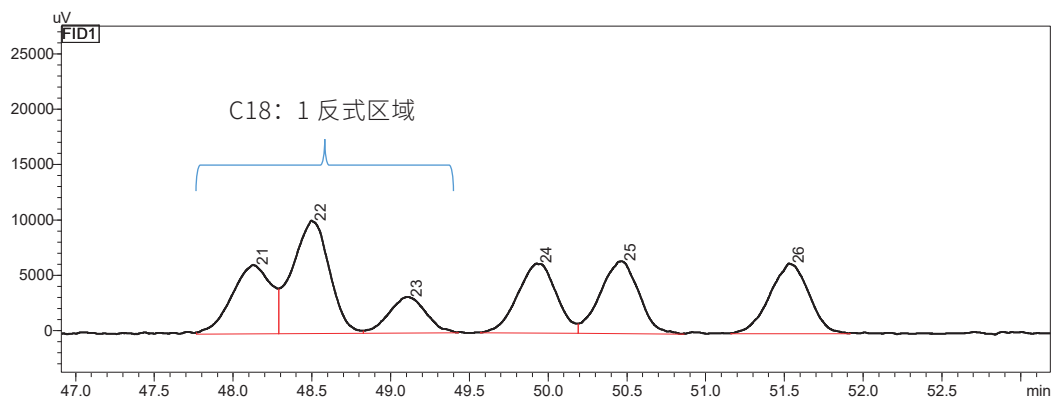


图 2 部分反式脂肪酸甲酯放大图

表 1 36 种脂肪酸甲酯信息

No.	中文名称	简称	CAS#	保留时间 (min)
1	丁酸甲酯	C4:0	623-42-7	10.37
2	己酸甲酯	C6:0	106-70-7	10.80
3	辛酸甲酯	C8:0	111-11-5	11.57
4	癸酸甲酯	C10:0	110-42-9	12.97
5	十一烷酸甲酯	C11:0	1731-86-8	14.06
6	十二烷酸甲酯	C12:0	111-82-0	15.53
7	十三烷酸甲酯	C13:0	1731-88-0	17.50
8	十四烷酸甲酯 / 肉豆蔻酸甲酯	C14:0	124-10-7	20.16
9	十四碳烯酸甲酯 (反 -9)/ 反式肉豆蔻烯酸甲酯	C14:1 t9	72025-18-4	22.17
10	十四碳烯酸甲酯 (顺 -9)/ 肉豆蔻烯酸甲酯	C14:1 c9	56219-06-8	23.25
11	十五烷酸甲酯	C15:0	7132-64-1	23.75
12	十五碳烯酸甲酯 (反 -10)	C15:1 t10	90176-51-5	26.45
13	十五碳烯酸甲酯 (顺 -10)	C15:1 c10	90176-52-6	27.84
14	十六烷酸甲酯 / 棕榈酸甲酯	C16:0	112-39-0	28.59
15	十六碳烯酸甲酯 (反 -9)/ 反棕榈油酸甲酯	C16:1 t9	10030-74-7	31.59
16	十六碳烯酸甲酯 (顺 -9)/ 棕榈油酸甲酯	C16:1 c9	1120-25-8	33.05
17	十七烷酸甲酯 / 珠光脂酸甲酯	C17:0	1731-92-6	35.10
18	十七碳烯酸甲酯 (反 -10)	C17:1 t10	369657-02-3	39.12
19	十七碳烯酸甲酯 (顺 -10)	C17:1 c10	75190-82-8	40.94
20	十八烷酸甲酯 / 硬脂酸甲酯	C18:0	112-61-8	43.86
21	十八碳烯酸甲酯 (反 -6)/ 反式岩芹酸甲酯	C18:1 t6	14620-36-1	48.13
22	十八碳烯酸甲酯 (反 -9)/ 反油酸甲酯	C18:1 t9	2462-84-2	48.50
23	十八碳烯酸甲酯 (反 -11)/ 反异油酸甲酯	C18:1 t11	6198-58-9	49.11
24	十八碳烯酸甲酯 (顺 -6)/ 岩芹酸甲酯	C18:1 c6	2777-58-4	49.93
25	十八碳烯酸甲酯 (顺 -9)/ 油酸甲酯	C18:1 c9	112-62-9	50.47

26	十八碳烯酸甲酯 (顺 -11)/ 异油酸甲酯	C18:1 c11	6198-58-9	51.53
27	十八碳二烯酸甲酯 (反 -9, 12)/ 反亚油酸甲酯	C18:2 t9t12	2566-97-4	57.55
28	十九碳烯酸甲酯 (反 -7)	C19:1 t7	--	61.03
29	十九碳烯酸甲酯 (反 -10)	C19:1 t10	84675-68-3	61.74
30	十八碳二烯酸甲酯 (顺 -9, 12)/ 亚油酸甲酯	C18:2 c9c12	112-63-0	62.95
31	二十烷酸甲酯 / 花生酸甲酯	C20	1120-28-1	71.64
32	十八碳三烯酸甲酯 (顺 -6, 9, 12)/ γ - 亚麻酸甲酯	C18:3 c6c9c12	16326-32-2	74.13
33	二十碳烯酸甲酯 (反 -11)	C20:1 t11	69119-90-0	79.27
34	十八碳三烯酸甲酯 (顺 -9, 12, 15)/ α - 亚麻酸甲酯	C18:3 c9c12c15	301-00-8	81.87
35	二十碳烯酸甲酯 (顺 -11)	C20:1 c11	2390-09-2	82.47
36	二十二碳烯酸甲酯 (反 -13)/ 巴惟酸甲酯	C22:1 t13	7439-44-3	92.26

以异辛烷为溶剂，配制总浓度为 2.5 mg/mL 亚油酸甲酯和 2.5 mg/mL 亚麻酸甲酯混合标准溶液，气相色谱图见图 3，相关化合物信息见表 2。

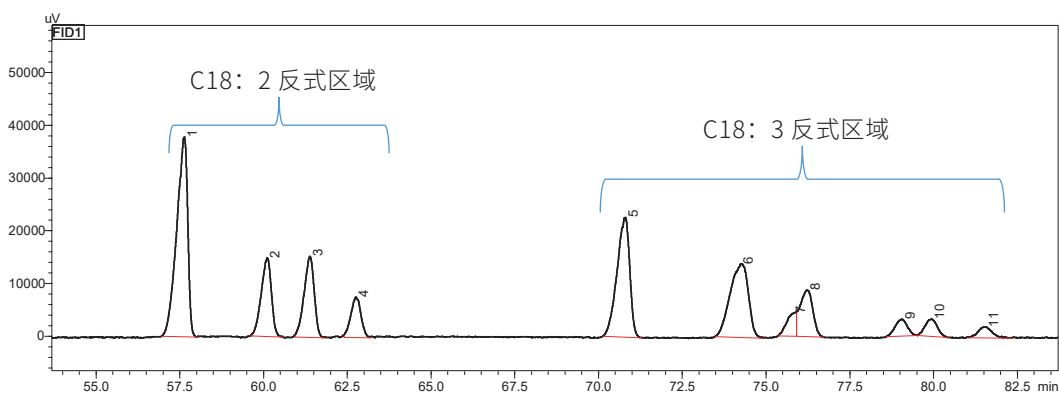


图 3 典型反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

表 2 典型反式脂肪酸甲酯信息

No.	类别	化合物	保留时间 (min)
1	亚油酸甲酯	C18:2 t9t12	57.65
2		C18:2 c9t12	60.12
3		C18:2 t9c12	61.39
4		C18:2 c9c12	62.77
5	亚麻酸甲酯	C18:3 t9t12t15	70.81
6		C18:3 t9t12c15/t9c12t15	74.25
7		C18:3 t9c12c15	75.81
8		C18:3 c9t12t15	76.24
9		C18:3 c9t12c15	79.08
10		C18:3 c9c12t15	79.95
11		C18:3 c9c12c15	81.57

2.2 重复性实验

用异辛烷配制总浓度为 10 mg/L 的脂肪酸甲酯标准溶液，重复测试 6 次，计算相对标准偏差。6 次重复测试的保留时间相对标准偏差小于 0.2%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好。具体结果见表 3：

表 3 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	C4:0	0.01	3.85	19	C17:1 c10	0.06	3.79
2	C6:0	0.01	1.67	20	C18:0	0.07	4.36
3	C8:0	0.01	2.34	21	C18:1 t6	0.05	2.20
4	C10:0	0.02	2.78	22	C18:1 t9	0.06	2.92
5	C11:0	0.02	2.37	23	C18:1 t11	0.06	4.32
6	C12:0	0.02	3.03	24	C18:1 c6	0.06	3.07
7	C13:0	0.02	2.18	25	C18:1 c9	0.06	3.11
8	C14:0	0.02	2.41	26	C18:1 c11	0.05	3.23
9	C14:1 t9	0.03	0.91	27	C18:2 t9t12	0.10	3.70
10	C14:1 c9	0.03	2.34	28	C19:1 t7	0.06	4.21
11	C15:0	0.03	2.04	29	C19:1 t10	0.08	1.76
12	C15:1 t10	0.05	2.48	30	C18:2 c9c12	0.07	4.34
13	C15:1 c10	0.04	2.44	31	C20	0.07	4.51
14	C16:0	0.04	2.48	32	C18:3 c6c9c12	0.08	4.51
15	C16:1 t9	0.03	2.45	33	C20:1 t11	0.11	4.45
16	C16:1 c9	0.05	1.84	34	C18:3 c9c12c15	0.06	3.72
17	C17:0	0.05	3.31	35	C20:1 c11	0.06	4.17
18	C17:1 t10	0.06	2.44	36	C22:1 t13	0.01	2.46

2.3 样品测试结果

应用本方法对两个药用大豆油样品进行了测定，得到样品的色谱图如下：

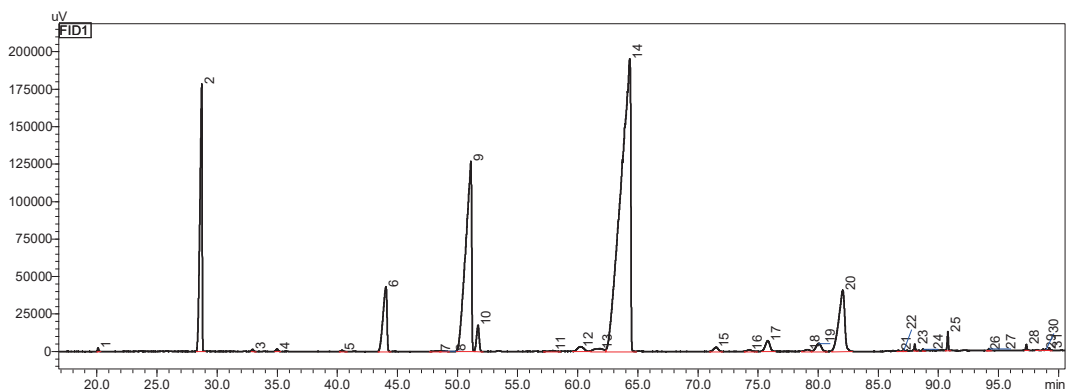


图 4 药用大豆油 -1 样品色谱图

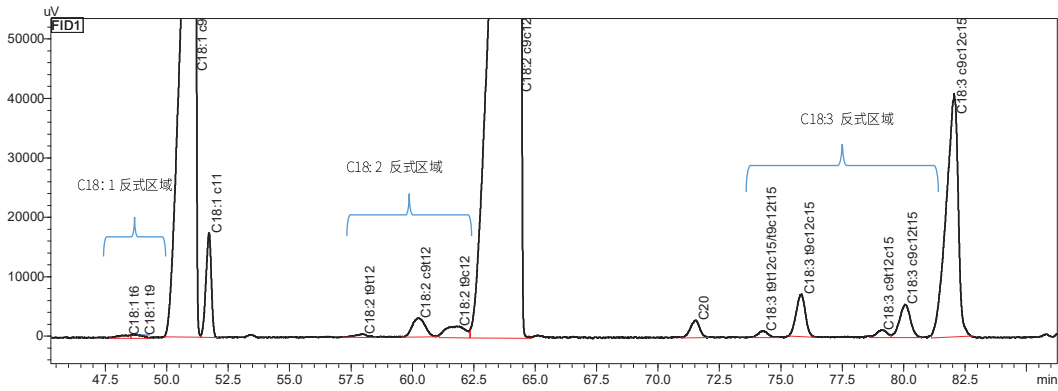


图 5 药用大豆油 -1 样品反式脂肪酸区域放大图

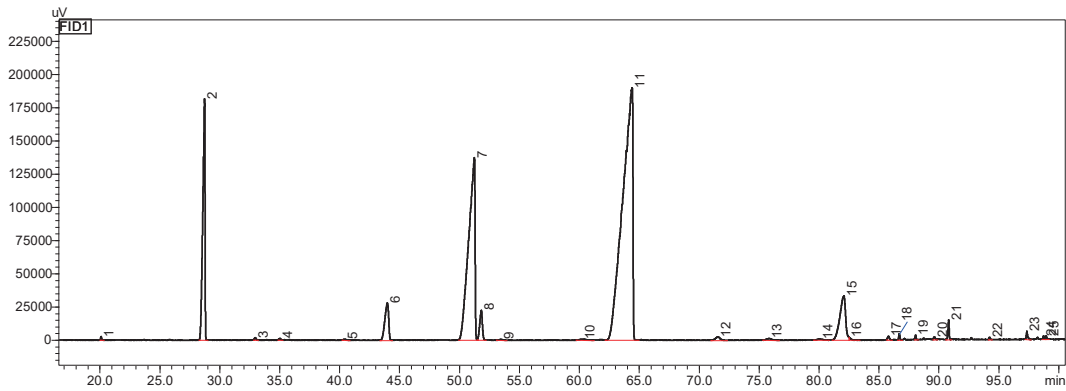


图 6 药用大豆油 -2 样品色谱图

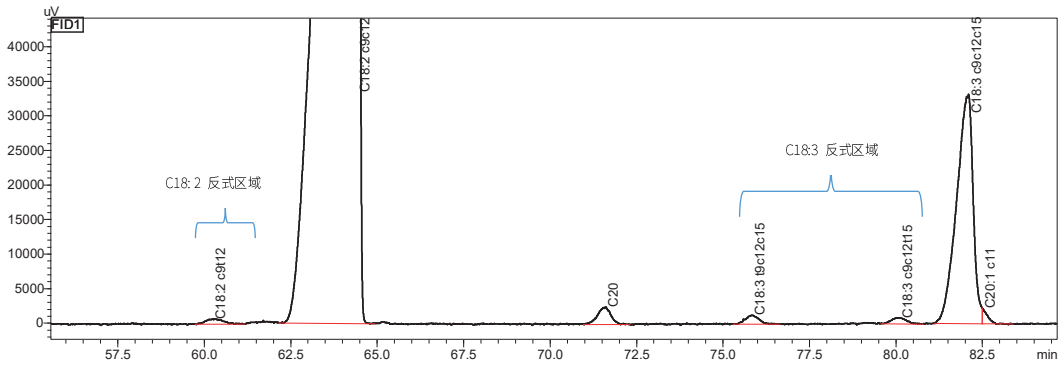


图 7 药用大豆油 -2 样品反式脂肪酸区域放大图

根据药典要求，按照峰面积归一化法计算样品中各反式脂肪酸甲酯峰占有所有脂肪酸甲酯总峰面积的百分比含量，结果如下：

表 4 药用大豆油 -1 样品反式脂肪酸测试结果

No.	化合物	保留时间 (min)	峰面积	含量 (%)
1	C18:1 t6	48.37	15130	0.070
2	C18:1 t9	48.80	17407	0.080
3	C18:2 t9t12	57.96	17385	0.080
4	C18:2 c9t12	60.26	112861	0.521
5	C18:2 t9c12	61.83	104669	0.483
6	C18:3 t9t12c15/t9c12t15	74.32	27222	0.126
7	C18:3 t9c12c15	75.86	183046	0.845
8	C18:3 c9t12c15	79.10	35613	0.164
9	C18:3 c9c12t15	80.07	168069	0.775

表 5 药用大豆油 -2 样品反式脂肪酸测试结果

No.	化合物	保留时间 (min)	峰面积	含量 (%)
1	C18:2 c9t12	60.25	23345	0.110
2	C18:3 t9c12c15	75.84	32717	0.154
3	C18:3 c9c12t15	80.12	24630	0.116

■ 结论

本文建立了气相色谱仪检测药用和药用辅料脂类物中反式脂肪酸含量的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，顺反异构体分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中反式脂肪酸测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.2%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行反式脂肪酸含量的测定。

岛津应用云

