

中国药典 2020 年版脂肪与脂肪油测定法增订内容解析及反式脂肪酸检测实例

吕晶, 方欣欣, 邵泓, 郑璐侠*, 陈钢* (上海市食品药品检验研究院, 国家药品监督管理局治疗类单抗质量控制重点实验室, 上海 201203)

摘要: 目的 解析中国药典 2020 年版通则 0713 “脂肪与脂肪油测定法”增订内容。方法 将增订项目与国外药典比较, 介绍增订项目的概念、测定原理及应用, 并应用反式脂肪酸检测方法对大豆油(供注射用)进行测定。结果 增订的不皂化物、碱性杂质、脂肪酸组成、甲氧基苯胺值、甾醇组成和反式脂肪酸体现了近年来中国脂肪与脂肪油测定领域的新理念、新方法和新技术。对反式脂肪酸检测方法进行方法学考察, 系列典型反式脂肪酸甲酯在 20~450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好(R^2 均 $\geq 0.998 0$), 重复性的相对标准偏差为 0.7%~10.2%, 检出限为 5~10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限为 15~34 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。20 批大豆油(供注射用)归一化法测定结果与内标法基本一致, 国内企业产品中的反式脂肪酸含量高于国外企业。结论 本版通则紧跟国际先进药典的发展趋势, 同时实现了自我革新和突破, 其实施有益于更好地提高酯类物质检验的技术能力和管理水平。反式脂肪酸检测方法可用于大豆油(供注射用)中反式脂肪酸含量的测定。

关键词: 中国药典 2020 年版; 脂肪与脂肪油测定法; 增订; 反式脂肪酸

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2021)05-0520-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.05.002

引用本文: 吕晶, 方欣欣, 邵泓, 等. 中国药典 2020 年版脂肪与脂肪油测定法增订内容解析及反式脂肪酸检测实例[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(5): 520-526.

Introduction of the Updated Content of Tests of Fats and Fatty Oils in the Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition and Determination Examples of Trans Fatty Acids

LYU Jing, FANG Xinxin, SHAO Hong, ZHENG Luxia*, CHEN Gang* (Shanghai Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Therapeutic Monoclonal Antibodies, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To introduce updated content in the general principle 0713 “tests of fats and fatty oils” in Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition. **METHODS** Compared the updated items with foreign pharmacopoeias, introduced the concepts, measurement principles and applications of the updated items, and determined the trans fatty acids in soybean oil(for injection) using the trans fatty acid determination method. **RESULTS** The updated content unsaponifiable matter, alkaline impurities, fatty acid composition, anisidine value, sterol composition and trans fatty acids reflected the new concepts, new methods and new technologies in the field of test of fat and fatty oil in China in recent years. Verification of trans fatty acid determination method showed that typical trans fatty acid methyl esters had good linear relationship within the ranges of 20–450 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (all $R^2 \geq 0.998 0$), and the RSD of repeatability test was of 0.7%–10.2%, the limit of detection was of 5–10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ and the limit of quantitation was of 15–34 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The results of 20 batches of soybean oil(for injection) based on the normalization method were basically consistent with the internal standard method. The content of trans fatty acids in the products of domestic enterprises was higher than that of foreign enterprises. **CONCLUSION** This edition of the general principle closely follows the development trend of the international advanced pharmacopoeias, and at the same time has achieved self-innovation and breakthroughs. Its implementation is beneficial to better improve the technical ability and management level of ester substance inspection. The trans fatty acid determination method can be used to determine the content of trans fatty acids in soybean oil(for injection).

KEYWORDS: Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition; tests of fats and fatty oils; supplement; trans fatty acids

中国药典 2020 年版已于 2020 年 12 月 30 日起正式实施, 其中通则 0713 “脂肪与脂肪油测定法”适用于药用或作制剂基质及赋形剂使用的酯类物质及类似物(不包括挥发油)的检验, 包括物理常数测定、定量限度试验与特殊性能试验等不同

类型的分析。与上一版通则相比, 中国药典 2020 年版通则 0713 首先进行了方法梳理, 将已收载于多个油脂品种个论项下大同小异的方法进行了统一整合后增订入通则, 如不皂化物、碱性杂质、脂肪酸组成; 其次, 做到了与国际接轨, 增订甲

作者简介: 吕晶, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (021)50798176 E-mail: lvjing_yjs@smda.sh.cn *通信作者: 陈钢, 男, 主任药师 Tel: (021)50798175 E-mail: gangchen@139.com 郑璐侠, 女, 博士, 主任药师 Tel: (021)50798176 E-mail: zhengluxia@smda.sh.cn

氧基苯胺值、甾醇组成；最后，侧重安全性指标，增订反式脂肪酸，填补了药典相关领域空白。本研究将 0713 通则增订项目与国外药典进行比较，对增订项目的概念、原理与应用解析，并应用反式脂肪酸检测方法对大豆油(供注射用)进行测定。

1 增订项目及与国外药典比较

中国药典 2020 年版通则 0713、美国药典 43 版附录 401 和日本药局方 17 版附录 1.13 均收录了“脂肪与脂肪油测定法”，英国药典 2020 年版与欧洲药典 10.3 版没有统一的附录收录脂肪与脂肪油测定法，而是在附录的各个章节收录具体的测定方法，如 2.5.1 酸值、2.5.3 羟值、2.5.6 皂化值、2.4.22 脂肪酸组成等。增订项目及与各国药典收录情况比较见表 1。从表 1 可见，中国药典 2020 年版通则 0713 形成了较为完备的脂肪与脂肪油测定标准体系，在检测项目上与主要发达国家药典保持了基本一致，并率先明确了反式脂肪

酸的检测方法。

2 主要增订项目解析

中国药典 2020 年版通则 0713 增订的内容体现了近年来中国脂肪与脂肪油测定领域的新理念、新方法和新技术，现将此部分的主要增订项目介绍如下。

2.1 甲氧基苯胺值

2.1.1 概念 甲氧基苯胺值测定可反映油脂中醛和酮类物质的量。油脂中不饱和甘油三酯在氧的存在下，最初生成过氧化物，可通过过氧化值表示，它是测量油脂最初氧化程度的指标，是对过氧化值的补充。这些过氧化物很不稳定，可继续分解成小分子化合物，如醛、酮等。

2.1.2 测定原理 油脂样品经异辛烷稀释，在乙酸存在条件下，非挥发性醛类(主要是 2-烯醛和 2,4-二烯醛)可与 4-甲氧基苯胺生成有色衍生物，在 350 nm 下检测，吸光度与醛类含量成正比。

表 1 增订项目及各国药典收录情况比较^[1-5]

Tab. 1 Updated items and comparison of the inclusion of national pharmacopoeias^[1-5]

项目	中国药典 2015 年版 通则 0713	中国药典 2020 年版 通则 0713	美国药典 43 版 附录 401	英国药典 2020 年版/ 欧洲药典 10.3 版	日本药局方 17 版 附录 1.13
供试品预处理	√	√	√	/	√
相对密度	√	√	√	2.2.5	√
折光率	√	√	/	2.2.6	/
熔点	√	√	√	2.2.14	√
凝点	/	/	/	2.2.18	/
酸值	√	√	√	2.5.1	√
羟值	√	√	√	2.5.3	√
碘值	√	√	√	2.5.4	√
过氧化值	√	√	√	2.5.5	/
皂化值	√	√	√	2.5.6	√
酯值	/	/	√	/	√
不皂化物	/	√(新增)	√	2.5.7	√
甾醇组成	/	√(新增)	√	2.4.23	/
脂肪酸凝点	√	√	√	2.2.18 (凝点)	√
脂肪酸组成	/	√(新增)	√	2.4.22	/
ω-3 脂肪酸组成	/	/	√	2.4.29	/
加热试验	√	√	/	/	/
杂质	√	√	/	/	/
精炼油中杂质酯	/	/	/	2.8.6	/
水分与挥发物	√	√	不挥发油中的水分和 沉积物	2.5.32 (水分)	/
碱性杂质	/	√(新增)	/	2.4.19	/
甲氧基苯胺值	/	√(新增)	√	2.5.36	/
总氧化值	/	/	√	/	/
反式脂肪酸	/	√(新增)	/	/	/
微量元素测定	/	/	镉 铜 铁 铅 镍 锌 砷 汞	镍(2.4.31) 镉(2.4.27)等	/

注：√表示收录；/表示未收录；2.2.5 等表示 BP 2020/EP 10.3 收录附录编号。

Note: √ meant loading; / meant unloading; 2.2.5, etc meant appendix no. of BP 2020 / EP 10.3.

2.1.3 应用 国外药典中甲氧基苯胺值测定常用于鱼油、鱼肝油等富含 ω -3 不饱和脂肪酸的品种氧化程度控制,不同品种限度范围为 10.0~30.0。而在橄榄油、大豆油和脂肪乳注射液中也常被用于产品质量的控制^[6-8]。中国药典 2020 年版中玉米油、花生油、椰子油供注射用时的甲氧基苯胺值限度分别为 8.0, 7.0, 2.0。

2.2 甾醇组成

2.2.1 概念 甾醇是广泛存在于生物体内的一种重要的天然活性物质,按其原料来源分为动物性甾醇、植物性甾醇和菌类甾醇等三大类。动物性甾醇以胆固醇为主,植物性甾醇主要为谷甾醇、豆甾醇和菜油甾醇等,而麦角甾醇则属于菌类甾醇。用脂溶性溶剂提取动植物组织中的脂类,其中常有多少不等的、不能为碱所皂化的物质,它们均以环戊烷多氢菲为基本结构,并含有醇基,故称为甾醇类化合物。

2.2.2 测定原理 甾醇的测定需要先将各组分分离再通过衍生化后经色谱分析^[9]。植物油提取不皂化物后,经液相色谱馏分收集器,收集相应的色谱峰,吹干,以 *N,O*-双(三甲基硅烷)三氟乙酰胺-三甲基氯硅烷(99:1)为硅烷化试剂进行衍生,用气相色谱法测定。也有研究采用气质联用进行测定^[10]。

2.2.3 应用 油脂中甾醇的组成和分布是不同的,因此与脂肪酸组成类似,也可以作为鉴别,并且比脂肪酸组成更适合用于昂贵油脂的掺伪分析^[11-12]。油脂中甾醇是多种甾醇混合物,其中 β -谷甾醇能降低血中胆固醇和血脂浓度,从营养和健康的角度应尽可能地保留甾醇,但过量的甾醇又会影响油脂的品质^[13]。

国外药典中甾醇组成常用于对橄榄油、大豆油、玉米油质量的控制,如橄榄油中对胆甾醇、菜油甾醇、 Δ 7-豆甾醇的含量上限及部分甾醇总量均进行了规定,而大豆油中含菜籽甾醇不得过 0.3%,可能用于防止菜籽油等其他油添加。中国药典 2020 年版中玉米油含菜籽甾醇限度为不得过 0.3%。

2.3 反式脂肪酸

2.3.1 背景 脂肪酸分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸,按双键的构型,不饱和脂肪酸又分为顺式脂肪酸和反式脂肪酸。反式脂肪酸即双键上 2 个碳原子结合的氢原子分别位于碳链的两侧,是含有反式双键的不饱和脂肪酸的总称。油脂在氢化、精炼(主要是脱色脱臭)等加工过程中会产生非天然的反式脂肪酸。其中精炼过程会产生少量的反

式脂肪酸,但不会产生位置异构,只含有原来不饱和脂肪酸的反式异构体。而氢化过程中不仅会产生原有的不饱和脂肪酸的反式异构体,还会产生双键位置异构的反式脂肪酸。到目前为止,不论是药理实验结果,还是流行病学调查数据都表明反式脂肪酸的过量摄入会导致:①血脂的不良代谢反应,包括增加低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL),降低高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL),增加血液中 LDL/HDL、总胆固醇/HDL 的比例;②促炎效应,包括增加 TNF- α 、IL-6 和 C-反应蛋白的含量;③血管内皮功能障碍,增加心血管疾病的风险。

2.3.2 测定原理 反式脂肪酸的检测手段有多种,如红外吸收光谱法(测定总量)、银离子薄层、气相色谱法、气相色谱-质谱法、银离子高效液相色谱法等。其中,气相色谱法被最为广泛地应用于反式脂肪酸组成分析。由于脂肪酸的碳链长度、不饱和度和双键的几何构型等结构上的差异,使各种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顺反脂肪酸甲酯,如长度为 100 m 的 SP-2340、SP-2560、CP-Si188 或 BPX-70 毛细管柱,都以高极性的氰丙基为固定相。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,需要建立合适的气相色谱系统条件,使得顺、反式位置异构体之间能完全分离(部分反式异构体之间并不能完全分离,但不影响反式部分整体定量)。而气质联用在分离度提高的基础上,还可以对反式脂肪酸做进一步的结构确证^[14]。

2.3.3 应用 世界各国相关部门陆续采取针对反式脂肪酸的管理措施,包括强制标示、立法规定最高限量等,见表 2。我国卫生部于 2013 年 1 月起实施的《食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则》(GB 28050-2011)中规定,反式脂肪酸摄入量应少于每日总能量的 1%,每日摄入反式脂肪酸应 ≤ 2.2 g。通则 0713 中新增反式脂肪酸项目,对药品领域的油脂中可能存在的反式脂肪酸进行控制,以通则先行的方式,为相关品种个论的质量标准提高提供指导。

表 2 国际组织和世界各国对反式脂肪酸限度规定/建议^[15]

Tab. 2 Regulations/recommendations on trans fatty acid limits by international organizations and countries around the world^[15]

联合国粮农组织(FAO) 世界卫生组织(WHO)	食品法典委员会(CAC)	丹麦	荷兰	英国	奥地利	瑞士	美国	加拿大	新加坡
每日摄入量 ≤ 2.2 g (每日摄入能量 8 400 kJ)	$\leq 3\%$ 总脂肪酸 (婴幼儿食品)	$\leq 2\%$ 总脂肪	$\leq 1\%$ 每日 总能量	$\leq 2\%$ 每日 总能量	$\leq 2\%$ 总脂肪 (脂肪含量 $>$ 20%的食品)	$\leq 2\%$ 总脂肪	$\leq 1\%$ 每日 总能量	$\leq 2\%$ 总脂肪 (油脂类) $\leq 5\%$ 总脂肪 (其他)	$\leq 2\%$ 总脂肪

3 反式脂肪酸检测实例探讨

应用通则 0713 中新增反式脂肪酸方法,对 8 家生产企业共 20 批大豆油(供注射用)中的反式脂肪酸进行了测定。

3.1 仪器与试剂

Agilent 7890 气相色谱仪(美国 Agilent 公司); SP-2560 弹性石英毛细管柱(100 m \times 0.25 mm, 0.20 μ m)(美国 Supelco 公司); XS205 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司)。

大豆油(供注射用)样品(国内企业 1,批号: 20190301, 20190302, 20190303; 国内企业 2,批号: A80190301, A10190302; 国内企业 3,批号: X18S181010, X18S181012; 国内企业 4,批号: 19100102-2-02, 19110101-2-01, 19020101-2-01; 国外企业 1,批号: 17C1719, 18C4811, 18C4815; 国外企业 2,批号: 80NA908, 80NB901, 80NB902; 国外企业 3,批号: 570000-2190391, 570000-2190392, 570000-2190393; 国外企业 4,批号: 0001478599); 52 组分混合脂肪酸甲酯对照品(美国 NU-CHEK 公司,批号: J1-A); 十一烷酸甘油三酯(批号: SLBN2641V)、十一烷酸甲酯(批号: BCBN6546V)、油酸甲酯(批号: PLEX5732V)、反式油酸甲酯(批号: TUEN3945V)、亚油酸甲酯混合对照品(trans-C18 : 2 : 50% 9t,12t, 20% 9t,12c, 20% 9c,12t, 10% 9c,12c,批号: XA20037V; 浓度: 10 μ g \cdot mL⁻¹)、亚麻酸甲酯混合对照品(trans-C18 : 3 : 30% 9t,12t,15t, 15% 9t,12t,15c, 15% 9t,12c,15t, 15% 9c,12t,15t, 7% 9c,12c,15t, 7% 9c,12t,15c, 7% 9t,12c,15c, 3% 9c,12c,15c,批号: XA20620V; 浓度: 10 μ g \cdot mL⁻¹)、14%三氟化硼甲醇溶液(批号: BCCC0180)均购自美国 Sigma 公司; 混合脂肪质控样品(英国 FAPAS 公司,批号: T14163QC; $|Z| < 2$ 范围为 0.073%~0.358%); 甲醇、异辛烷均为色谱纯; 氢氧化钠、氯化钠、无水硫酸钠均为分析纯。

3.2 方法与结果

3.2.1 色谱条件 SP-2560 弹性石英毛细管柱(100 m \times 0.25 mm, 0.20 μ m); 进样口温度 250 $^{\circ}$ C; 柱箱程序升温,初始温度 163 $^{\circ}$ C,维持 87 min,后以 30 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升温至 240 $^{\circ}$ C,维持 13 min; 分流比 30 : 1; 恒压 40 psi; 进样量 1 μ L。

3.2.2 溶液的制备 分别取油酸甲酯对照品、反式油酸甲酯对照品、亚油酸甲酯混合对照品和亚麻酸甲酯混合对照品适量,加异辛烷溶解并稀释制成每 1 mL 中各含 1, 1, 2.5 mg(顺反异构体总浓度), 2.5 mg(顺反异构体总浓度)的溶液,作为系统适用性溶液,用于顺反脂肪酸甲酯的定位及分离度确认。

取大豆油(供注射用)样品 100 mg,置 50 mL 回流瓶中,加 0.5 mol \cdot L⁻¹氢氧化钠甲醇溶液 4 mL,在水浴中加热回流 10 min,放冷,加 14%三氟化硼甲醇溶液 5 mL,在水浴中加热回流 5 min,放冷,加异辛烷 2 mL,继续在水浴中加热回流 1 min。放冷,加饱和氯化钠溶液 10 mL,摇匀,静置使分层,取上层液,经无水硫酸钠干燥,作为供试品溶液。

3.2.3 方法学考察 对反式脂肪酸采用气相色谱法进行测定已有食品行业国家标准,是较为成熟的方法。本研究为面积归一化法,无法进行回收试验,故与内标法结果进行了对比,同时应用本法对 FAPAS 质控样品进行考察,间接反映方法的准确度。故本研究方法学考察仅研究以下内容。

3.2.3.1 线性范围、检出限与定量限 以反式脂肪酸甲酯/十一烷酸甲酯峰面积比为纵坐标(Y); 以反式脂肪酸甲酯/十一烷酸甲酯浓度比为横坐标(X)绘制标准曲线。所用色谱系统条件下的典型反式脂肪酸甲酯的线性范围、检出限和定量限见表 3。在 20~450 μ g \cdot mL⁻¹线性关系良好, R^2 均 $\geq 0.998 0$,检出限为 5~10 μ g \cdot mL⁻¹,定量限为 15~34 μ g \cdot mL⁻¹。

3.2.3.2 重复性试验 取国内企业 1 的供试品(批号: 20190301),一式 6 份制备供试品溶液,考察试验的重复性,结果见表 4。典型反式脂肪酸甲酯重复性的相对标准偏差为 0.7%~10.2%。

表 3 反式脂肪酸甲酯的线性、范围、检出限和定量限

Tab. 3 Linearity, range, detection limit and quantification limit of trans fatty acid methyl ester

反式脂肪酸甲酯	线性方程(n=6)	范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	R^2	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	定量限/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
C18:1t9	$Y=1.0528X+1.974\times 10^{-3}$	20~350	0.9998	5	16
C18:2t9t12	$Y=1.2252X-3.699\times 10^{-3}$	50~300	0.9996	5	16
C18:2t9c12	$Y=1.3170X-1.287\times 10^{-3}$	20~120	0.9996	5	16
C18:2c9t12	$Y=1.3316X-5.589\times 10^{-4}$	20~120	0.9996	5	16
C18:3t9t12t15	$Y=1.8120X-3.225\times 10^{-2}$	75~450	0.9981	4	15
C18:3t9t12c15/t9c12t15	$Y=1.4346X-1.453\times 10^{-2}$	75~450	0.9981	8	27
C18:3c9t12t15/t9c12c15	$Y=1.1994X-1.974\times 10^{-3}$	55~330	0.9981	10	34
C18:3c9t12c15	$Y=1.0164X-4.161\times 10^{-3}$	35~105	0.9980	9	29
C18:3c9c12t15	$Y=1.0102X-4.279\times 10^{-3}$	35~105	0.9980	9	29

表 4 反式脂肪酸重复性结果

Tab. 4 Repeatability results of trans fatty acids

反式脂肪酸组成	平行操作 6 次						平均	RSD
	1	2	3	4	5	6		
C18:1t9	0.0635	0.0587	0.0604	0.0542	0.0546	0.0625	0.06	6.6
C18:2t9c12/C18:2c9t12	0.6018	0.5828	0.5729	0.5716	0.5804	0.6042	0.59	2.4
C18:3ttc/tct	0.2124	0.1668	0.1714	0.1647	0.1760	0.1688	0.18	10.2
C18:3ctt/tcc	0.8745	0.8874	0.8937	0.8815	0.8923	0.8870	0.89	0.8
C18:3ctc	0.1198	0.1058	0.1166	0.1157	0.1176	0.1256	0.12	5.6
C18:3cct/C20:1t11	0.7575	0.7984	0.7862	0.7898	0.7919	0.7745	0.78	1.9
总反式脂肪酸	2.63	2.60	2.60	2.58	2.61	2.62	2.61	0.7

3.2.3.3 内标法结果比较 通则 0713 中反式脂肪酸方法采用面积归一化法计算结果，直接获得反式脂肪酸甲酯占总脂肪酸甲酯的相对含量。为了验证结果的准确性，同时对 8 家企业各 1 批供试品采用内标法进行了测定，除在供试品中加入 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 十一烷酸甘油三酯异辛烷溶液 1.0 mL、十一烷酸甲酯对照测定内标法校正因子外，其余均与通则 0713^[16]中反式脂肪酸测定方法一致。通过供试品溶液进样结果，按下式计算供试品中反式脂肪酸甲酯含量 $[\text{g}\cdot(100\text{ g})^{-1}]$ ：

$$w_{\text{TFA}} = \frac{\sum A_{\text{TFA}} \times w_{\text{C11}} \times f_{\text{TFA}} \times 1.0067}{A_{\text{C11}} \times m} \times 100$$

A_{C11} 为供试品溶液色谱图中十一烷酸甲酯的峰面积； A_{TFA} 为供试品溶液色谱图中各反式脂肪酸甲酯的峰面积； w_{C11} 为供试品中加入的十一烷酸甘油三酯质量(mg)； f_{TFA} 为测得的各反式脂肪酸甲酯内标法校正因子；1.0067 为将十一烷酸甘油三酯转换为十一烷酸甲酯的换算因子； m 为供试品称量(mg)。

内标法加入内标用于抵消处理过程中甲酯化率、提取率影响，可以获得反式脂肪酸甲酯绝对量及占总甘油三酯中含量，但试验操作和计算繁琐。对采用 2 种方法测得的相对含量结果进行了比较，结果见表 5。从结果可知，大豆油的脂肪酸

组成明确、设定色谱系统条件下脂肪酸甲酯全部出峰，面积归一化法和内标法结果较为一致。同时，对 FAPAS 混合脂肪质控样品的测定结果为 0.281，在 $|z| < 2$ 范围内，从而验证了结果的准确性。考虑到 2 种方法的前处理方法、结果计算均不同，目前偏差应在合理试验误差范围内。

表 5 归一化法和内标法结果比较

Tab. 5 Comparison of results between normalization method and internal standard method

生产企业	批号	面积归一化法/%	内标法/ $\text{g}\cdot(100\text{ g})^{-1}$
国内企业 1	20190301	2.62	3.27
国内企业 2	A80190301	2.47	3.01
国内企业 3	X18S181010	2.62	3.23
国内企业 4	19110101-2-01	2.29	2.82
国外企业 1	17C1719	0.24	0.30
国外企业 2	80NA908	0.49	0.59
国外企业 3	570000-2190391	1.00	1.23
国外企业 4	0001478599	0.92	1.15

3.2.4 样品测定结果 反式脂肪酸甲酯对照品溶液和供试品溶液典型图谱见图 1，结果见表 6，从表中可以看出，国内 4 家企业的 10 批供试品中反式脂肪酸含量明显高于国外 4 家企业的 10 批供试品，由此推断，国内几家企业的工艺与国外企业存在差异，建议国内几家企业关注大豆油(供注射用)中的反式脂肪酸含量，进而改进相关生产工艺，减少使用本品带来的安全隐患。

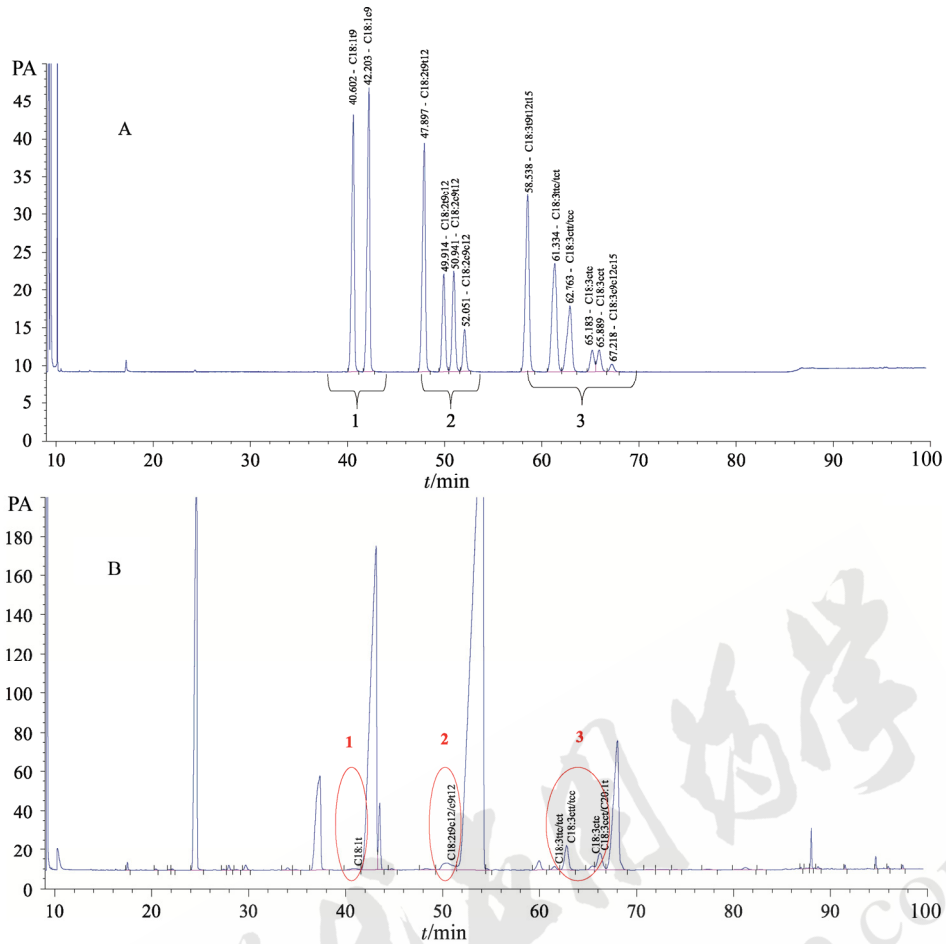


图 1 反式脂肪酸甲酯对照品和供试品气相色谱图
 A-反式脂肪酸甲酯对照品; B-供试品; 1-C18:1 反式区域; 2-C18:2 反式区域; 3-C18:3 反式区域。

Fig. 1 Gas chromatograms of trans fatty acid methyl ester reference and the test sample

A-trans fatty acid methyl ester reference; B-test sample; 1-C18:1 trans fatty acids area; 2-C18:2 trans fatty acids area; 3-C18: 3 trans fatty acids area.

表 6 8 家企业反式脂肪酸测定结果

Tab. 6 Trans fatty acids results of 8 companies

生产企业	批号	C18:1t6/9/11	C18:2tc/ct	C18:3ttc/tct	C18:3ctt/tcc	C18:3ctc	C18:3cct/C20:1t11	总反式脂肪酸 %
国内企业 1	20190301	0.07	0.60	0.10	0.86	0.14	0.76	2.52
	20190302	0.07	0.60	0.10	0.86	0.14	0.76	2.53
	20190303	0.07	0.59	0.10	0.86	0.14	0.76	2.52
国内企业 2	A80190301	0.14	0.48	0.07	0.81	0.11	0.71	2.32
	A10190302	0.14	0.60	0.09	0.86	0.11	0.76	2.55
国内企业 3	X18S181010	0.07	0.59	0.10	0.85	0.14	0.76	2.50
	X18S181012	0.07	0.61	0.10	0.86	0.14	0.76	2.54
国内企业 4	19100102-2-02	0.12	0.74	0.14	0.96	0.16	0.85	2.97
	19110101-2-01	0.09	0.62	0.08	0.71	0.12	0.62	2.24
	19020101-2-01	0.06	0.59	0.10	0.86	0.14	0.76	2.52
国外企业 1	17C1719	0.00	0.08	0.00	0.09	0.00	0.05	0.22
	18C4811	0.00	0.07	0.00	0.09	0.00	0.04	0.20
	18C4815	0.00	0.07	0.00	0.09	0.00	0.05	0.21
国外企业 2	80NA908	0.00	0.16	0.00	0.18	0.00	0.15	0.50
	80NB901	0.00	0.14	0.00	0.16	0.00	0.12	0.42
	80NB902	0.00	0.16	0.00	0.16	0.00	0.11	0.42
国外企业 3	570000-2190391	0.04	0.28	0.02	0.34	0.05	0.29	1.02
	570000-2190392	0.04	0.27	0.01	0.31	0.05	0.26	0.94
	570000-2190393	0.04	0.24	0.01	0.32	0.05	0.27	0.93
国外企业 4	0001478599	0.10	0.22	0.00	0.29	0.04	0.24	0.89

3.3 限度建议

若大豆油(供注射用)作为营养药用作肠外输液,通过以下方式推算限值:

按摄入量不得>1%总能量的要求:以常用三腔袋全营养输液(如卡文:20%脂肪乳氨基酸 18 葡萄糖 11%注射液)能量及配比如例,见表 7,1 d 1 袋最大装量卡文(2 400 mL)的热量是 1 700 kcal=1 700×4.2=7 140 kJ,相应反式脂肪酸限量为 2.2 g×7 140/8 400=1.87 g,处方中大豆油含量为 85 g,限度即为 1.87 g/85 g×100%=2.2%。以上计算过程中将固定系数折算后,可得到统一公式:输液摄入总能量(kcal)/处方中大豆油含量(g)×0.11,其他 2 个规格输液限值依此计算结果分别为 2.3%,2.2%。由于营养输液临床使用时各成分处方比例相对固定,因此可基本确定反式脂肪酸限值约为 2%(每 100 g 甘油三酯中含有 2 g)。

按摄入量不得>2.2 g 的要求:从滴注脂肪乳注射剂的情况来看,成人一般推荐剂量为 2 g(甘油三酯)/kg(体质量),以 1 名 60 kg 体质量的成人来推算,限度为 2.2 g/(2 g/kg×60 kg)×100%=1.8%;类似的,若以一般 1 d 滴注 20%脂肪乳 500 mL 的情况推算,限度为 2.2 g/(0.2 g/mL×500 mL)×100%=2.2%。

表 7 卡文三腔袋营养输液能量及配比

Tab. 7 Kabiven three-cavity bag nutritional infusion energy and proportion

卡文三腔袋规格/mL	成分				总能量/kcal
	葡萄糖 11%/mL	氨基酸 18/mL	脂肪乳 20%/mL	精制大豆油/g	
2 400	1 475	500	425	85	1 700
1 920	1 180	400	340	68	1 400
1 440	885	300	255	51	1 000

若大豆油(供注射用)仅作为载药脂肪乳,注射体积一般为 10~50 mL,但考虑到直接注射到人体静脉的特殊性,建议限度也不应低于食品行业中反式脂肪酸占总脂肪含量的相关规定(表 2),即不得过 2%(每 100 g 甘油三酯中含有 2 g)。

4 总结

以上就中国药典 2020 年版通则 0713“脂肪与脂肪油测定法”的主要增订内容进行了解析,并应用反式脂肪酸方法对大豆油(供注射用)进行了测定,结果显示在收集的 20 批供试品中,国内企

业产品反式脂肪酸含量高于国外企业(且高于建议的 2%限度),因此有必要对此类产品中的反式脂肪酸进行控制。

本版通则紧跟国际先进药典的发展趋势,同时实现了自我革新和突破,其实施有益于更好地提高酯类物质检验的技术能力和管理水平,从而加强相关药品的质量控制,保障我国药品的安全性和有效性。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 四部[S]. 2015: 附录 0713: 92-94.
- [2] USP(43)-NF(38)[S]. 2020.
- [3] BP.2020[S]. 2020.
- [4] EP.10.3[S]. 2020.
- [5] JP.XVII[S]. 2016.
- [6] ZHOU L M, ZENG S H, CHEN Y. Discussion on determination of anisidine value in fat emulsion injection[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2013, 44(2): 185-188.
- [7] WANG F Z, ZHU J B, JIA G Y, et al. Refining of soybean oil with low methoxyaniline value for fat emulsion injection[J]. China Oils Fats(中国油脂), 2018, 43(12): 31-34.
- [8] ZHOU J Z, DONG W J, LIU Y L. Determination of the anisidine value in baicalein lipid emulsions by complex precipitation-UV spectrophotometry method[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2019, 36(24): 3019-3022.
- [9] FANG X X, XU M M, ZHENG L X, et al. Research on chromatography of sterols in pharmaceutical lipid excipient olive oil[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2015, 35(11): 1924-1929.
- [10] YANG C Y, LIU X M, CHEN Z Y, et al. Determination of phytosterols of fourteen edible vegetable oils by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Chin Cereals Oils Assoc(中国粮油学报), 2013, 28(2): 123-128.
- [11] JIN J, ZHANG J H, JIN Q Z, et al. Existing forms and content of sterols as possible markers for detection of adulteration in vegetable oils[J]. J Chin Cereals Oils Assoc(中国粮油学报), 2013, 28(6): 118-122.
- [12] XU M M, ZHENG L X, LÜ J, et al. Identification of eight kinds of vegetable oils and fats by analysis of sterol composition combined with chemometrics[J]. China Oils Fats(中国油脂), 2016, 41(1): 84-87.
- [13] ZHENG S M. Study on the changes of free sterols and esterified sterols in corn oil during refining processes[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2016.
- [14] FANG X X, LÜ J, CHEN G. Detection of trans fatty acids in fats and oils of pharmaceutical excipients[J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2017, 48(2): 231-238.
- [15] 武彦文. 反式脂肪酸[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- [16] 中国药典. 四部[S]. 2020: 通则 0713.

收稿日期: 2020-11-14

(本文责编: 李艳芳)